

过硫酸铵配施不同形态木霉菌肥缓解苹果连作障碍

黄君霞, 张 荣, 徐少卓, 相 立, 陈学森, 沈 向, 尹承苗*, 毛志泉*

(山东农业大学作物生物学国家重点实验室/山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安 271018)

摘要:【目的】研究肥料形态及土壤条件对木霉菌肥改善苹果土壤连作障碍的影响, 以期缓解苹果连作障碍提供有效的理论依据和技术支持。【方法】试验以苹果砧木—平邑甜茶 (*Malus hupehensis* Rehd.) 幼苗为试材, 设置 4 个处理: 连作土 (CK)、过硫酸铵处理 (T1)、过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 (T2)、过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 (T3)。通过土壤微生物高通量测序、实时荧光定量 PCR 等技术研究了各处理对土壤微生物群落结构和土壤有害真菌数量的影响, 并对各处理的平邑甜茶幼苗生理特性 (植株生物量、根系呼吸速率、根系保护酶活性) 进行了测定。【结果】颗粒状与粉末状木霉菌肥不同程度地促进了平邑甜茶幼苗的生长, 改善了连作土壤微生物环境, 提高了根系保护酶及土壤酶活性, 颗粒状菌肥的促进效果好于粉末状菌肥。与对照相比, T1 处理显著提高了连作平邑甜茶幼苗的生长, T2 和 T3 处理促进平邑甜茶幼苗生长的效果又显著高于 T1 处理。T1 处理的土壤蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶、脲酶活性显著低于对照, 而 T2、T3 处理显著高于对照, T2 处理的蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶、脲酶的活性分别比对照提高 45.41%、92.85%、56.32%、186.67%, T3 处理分别比对照提高 32.96%、83.89%、43.68%、165.56%。平邑甜茶幼苗的根系活力及根系氧化酶活性 4 个处理间均差异显著, 由高到低的顺序为 T2 > T3 > T1 > CK, T2 处理的根系活力及根系氧化酶活性分别是对照的 1.41 和 2.80 倍。实时荧光定量 PCR 分析结果表明, T1、T2 和 T3 处理都能优化土壤微生物环境, 增加土壤细菌数量, 降低土壤有害真菌腐皮镰孢菌 (*Fusarium solani*) 数量, T2 与 T3 处理土壤细菌分别是对照的 2.18、2.55 倍, 放线菌数量分别是对照的 1.71、1.53 倍。土壤高通量测序检测数据显示, 相较于连作对照, T2 处理木霉属相对丰度明显增加 58.8%, 链格孢属相对丰度显著下降 92.87%, T3 处理的镰孢属相对丰度与连作对照相比降低了 64.18%。【结论】在过硫酸铵处理的连作土壤上施用木霉菌肥, 可进一步提高土壤中细菌数量, 降低有害真菌数量, 优化土壤微生物环境, 提高平邑甜茶幼苗的根系活力和植株生长。过硫酸铵联用颗粒状木霉菌肥的效果优于联用粉末状木霉菌肥。

关键词: 连作障碍; 平邑甜茶; 过硫酸铵; 木霉菌肥; 肥料形态; 土壤微生物; 土壤酶

Combining application of ammonium persulfate with different forms of *Trichoderma* fertilizer alleviates apple replant disease

HUANG Jun-xia, ZHANG Rong, XU Shao-zhuo, XIANG Li, CHEN Xue-sen, SHEN Xiang,
YIN Cheng-miao*, MAO Zhi-quan*

(College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: 【Objectives】We studied the effects of fertilizer forms and soil conditions on apple replant soil disease by using *Trichoderma* fertilizer to provide effective theoretical basis and technical support for alleviating apple replant disease. 【Methods】This experiment, using apple rootstock (*Malus hupehensis* Rehd.) seedlings as the test material, involved four treatments: replant soil (CK), ammonium persulfate (T1), ammonium persulfate

收稿日期: 2020-10-14 接受日期: 2020-12-30

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-27); 山东省高等学校青创科技支持计划项目 (2019KJF020); 国家自然科学基金项目 (32072510); 山东省农业重大应用技术创新项目 (SD2019ZZ008); 泰山学者资助项目 (NO.ts20190923); 山东省水果创新团队项目 (SDAIT-06-07)。

联系方式: 黄君霞 E-mail: 1948283368@qq.com

* 通信作者 尹承苗 Tel: 0538-8768246, E-mail: yinchengmiao@163.com; 毛志泉 E-mail: mzhiquan@sdau.edu.cn

plus granular *Trichoderma* fertilizer (T2), and ammonium persulfate plus powdery *Trichoderma* fertilizer (T3). Through high-throughput sequencing of soil microorganisms, quantitative real-time PCR and other technologies, the effects of each treatment on soil microbial community structure and number of soil harmful fungi were studied. Physiological characteristics of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings (plant biomass, root respiration rate, and root protective enzyme activity) were determined. **【 Results 】** Granular and powdery *Trichoderma* fertilizers promoted the growth of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings in different degrees, improved soil microbial environment, and increased the activities of root protection enzymes and soil enzymes. The promotion effect of granular fertilizer was better than that of powdery fertilizer. Compared with control, T1 treatment significantly improved the growth of *M. hupehensis* Rehd. seedlings, while T2 and T3 treatments showed significantly higher promoting effects than T1 did. Compared with CK, T1 significantly decreased the activities of sucrase, phosphatase, catalase and urease, while T2 increased those by 45.41%, 92.85%, 56.32% and 186.67%, T3 increased those by 32.96%, 83.89%, 43.68% and 165.56%, respectively. The root activity and root oxidase activity of *M. hupehensis* Rehd. seedlings were in order of T2 > T3 > T1 > CK, those in T2 treatment were 1.41 and 2.80 times respectively higher than those in CK. Real-time fluorescence quantitative results showed that both ammonium persulfate and *Trichoderma* fertilizer application could optimize soil microbial environment, increase the number of soil bacteria, and reduce the number of soil harmful fungus (*Fusarium solani*). Compared with CK, the number of soil bacteria was 2.18 and 2.55 times of that in CK under T2 and T3 treatment, and the number of soil actinomycetes was 1.71 and 1.53 times under T2 and T3, respectively. Soil high-throughput sequencing data showed that T2 significantly increased the relative abundance of *Trichoderma* by 58.8%, decreased the relative abundance of *Alternaria* by 92.87%, while T3 decreased the relative abundance of *Fusarium* by 64.18%.

【 Conclusions 】 Ammonium persulfate plus *Trichoderma* fertilizer could significantly reduce the number of harmful soil fungi, increase the number of soil bacteria, optimize the soil microbial environment, and promote the root activities and growth of *M. hupehensis* Rehd. seedlings. The effect of ammonium persulfate plus with granular *Trichoderma* fertilizer is better than that of ammonium persulfate plus powder *Trichoderma* fertilizer.

Key words: replant disease; *Malus hupehensis* Rehd.; $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$; *Trichoderma* fertilizer; fertilizer form; soil microorganism; soil enzyme

我国是苹果生产和消费的第一大国^[1]。近年来,随着集约化高效栽培模式的不断推广,果园重茬栽培日趋严重,严重制约了苹果产业的发展^[2]。连作障碍最直接的表现苹果植株根系损伤严重、茎叶稀疏,果实产量低、品质变劣^[3-4]。因此,探寻防治苹果连作障碍的有效措施对未来苹果产业的可持续发展具有重要意义。

多数研究表明,连作障碍的发生可能与土壤环境中病原菌数量激增有关^[5-7]。苹果树长期的单一种植,会改变微生物的多样性,微生物种类逐渐由“细菌型”向“真菌性”转变^[8-9]并且特殊的土壤给予病原菌更优越的繁殖环境,土壤中镰孢菌属(*Fusarium* sp.)、柱孢菌属(*Cylindrocarpon* sp.)和链格孢属(*Alternaria* sp.)等有害真菌属水平增加,导致幼树成活率低、发病程度加重等^[10-11]。目前,土壤消毒、生物防治和轮作都可较好地优化土壤环境,促进再植幼苗的生长^[12]。常见的土壤处理方式主要分为

物理和化学两种方式,但是物理处理成本较高,且操作繁琐;化学药剂处理虽然简单高效,但其主要的化学成分对环境及人体有害,不符合绿色环保的发展理念。因此,寻找具有环保、安全特性的土壤处理措施,对促进苹果产业的健康发展有重要帮助。

过硫酸铵 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 为无机氧化剂,属于过硫酸盐,因其含有硫酸根自由基,所以具有强氧化性,有防腐保鲜和降解污染物等能力^[13-15],此外过硫酸铵成本低、药源丰富,对环境无污染、溶解度高。因此,过硫酸铵氧化降解污染物方面具有广阔的研究前景。Michael-Kordatou 等^[16]在二级废水中证明,过硫酸盐可以快速完全的降解废水中的红霉素和灭活具有 ERY 抗性的大肠杆菌,处理后的废水与未处理的废水相比,具有较低的植物毒性。周佳欣等^[17]发现过硫酸盐产生的硫酸根自由基,可高效降解土壤中的氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒酶素。硫酸根自由基的强大氧化能力可明显将土壤中难降解的有

机污染物去除,并形成更低消毒副产物的倾向^[18]。

田给林等^[19]研究发现,灭菌后的土壤会对草莓根系生长产生抑制,而在灭菌后的土壤中施用有机肥能促进草莓根系生长。木霉菌具有增强植物组织的抗逆酶活性^[20],改良微生物群落结构,调节土壤理化状况,有效防治土传真菌病害等优势^[21-22]。市面上常见的木霉菌肥分为粉末状和颗粒状2种形态,粉末状菌肥成分间排列疏松,移动性强容易掺混,但是难以控制结块,易随水分流失;颗粒状菌肥在土壤中释放缓慢,肥效长,但是不易与土壤混匀^[23-24]。

本研究拟通过前期对老龄苹果园土壤进行过硫酸铵处理,栽植幼苗时施入木霉菌肥的方式来研究其对苹果连作障碍的缓解效果,从而为控制果园再植病的发生提供有效措施。

1 材料与方法

1.1 试验材料

连作土于2019年3月份取自山东省泰安市满庄镇,土壤为32年树龄苹果的老果园砂壤土,在距树干80 cm、地表下10—40 cm的区域内多点随机取土,后将其混匀。土壤理化性状为有机质7.85 g/kg、速效氮28.2 mg/kg、速效钾96.0 mg/kg、有效磷10.6 mg/kg、土壤pH为5.75。

盆栽苗为苹果常用砧木品种—平邑甜茶(*Malus hupehensis* Rehd.),2019年1月份将平邑甜茶种子在4℃条件下层积处理40天左右直至露白,3月份播种于特定的育苗基质中,待5月初幼苗长至5~6片真叶时选取无病虫害、长势整齐的栽植到不同土壤处理的瓦盆中(直径24 cm、高18 cm,土壤质量7 kg)。

过硫酸铵由天津市凯通化学试剂有限公司生产,施用浓度为0.5% (M:M)。

菌肥采用颗粒和粉末形态的木霉菌肥,活菌量为 2.00×10^9 cfu/g,由德州创迪微生物资源有限公司制作,主要菌种为哈茨木霉。

1.2 试验设计

过硫酸铵处理在平邑甜茶定植前半个月(本试验于2019年4月中旬)进行,具体实施如下:将过硫酸铵与老龄苹果园土壤按施用浓度0.5% (M:M)混合均匀,装入防透气塑料袋中,用水浇灌直至袋中上层土壤达到饱和状态(盆中上层水不再下渗),再把塑料袋进行封口,7天后揭开塑料袋,并充分摊开晾晒。

在移栽前一天下午,将经过硫酸铵处理的土壤

与木霉菌肥按照2000:1的质量比掺混均匀,装入盆中,适当浇水至饱和(盆中上层水不再下渗)。本试验共设置4个处理:连作土(CK)、过硫酸铵处理(T1)、过硫酸铵加施颗粒状菌肥(T2)、过硫酸铵加施粉末状菌肥(T3)。

2019年5月1日,各处理(每个处理20盆,每盆移栽2株幼苗)统一栽植平邑甜茶幼苗,之后进行正常的肥水管理。在2019年8月末对4个处理进行土壤及植株取样。采集土样时,去掉表层土和盆周围土,将主根和侧根上附着的土壤轻轻抖落于密封袋中,过2 mm筛后分为两份,一份放入低温冰箱(测定土壤微生物数量及进行土壤高通量测序),一份室温风干后测定土壤酶活性。平邑甜茶幼苗用水洗净后,剪取根系生长旺盛的白根保存于液氮中用于测定根酶。植株带回实验室进行株高、地径及干、鲜质量的测量。

1.3 试验方法

1.3.1 根系呼吸速率和根系保护酶活性的测定 选取健康根系上的优质白根,用双面刀切成2 mm长的根段,用Oxytherm氧电极自动测定系统进行根系呼吸速率的测定^[25]。根系保护酶(CAT)活性的测定采用Singh等^[26]的方法。

1.3.2 平邑甜茶幼苗生物量的测定 各处理选取3株长势一致的植株,用水管冲洗植株及根部,用米尺和游标卡尺分别测量株高和地径,用电子天平称量植株鲜重,烘干后再进行干重的称量。

1.3.3 土壤酶活性的测定 土壤酶的测定参考关松荫^[27]的方法,将取回来的土壤晾干,过2 mm筛。脲酶活性测定采用靛酚蓝比色法,中性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法,蔗糖酶活性测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法,过氧化氢酶活性利用高锰酸钾滴定法测定。

1.3.4 土壤微生物数量的测定 土壤微生物(细菌、真菌和放线菌)的测定参考程丽娟等^[28]涂布平板法。真菌采用PDA培养基进行涂布,在28℃培养箱培养3天后进行计数;细菌采用LB固体培养基进行涂布,在37℃培养箱培养,1天后进行计数;放线菌采用高氏I号培养基进行涂布,在28℃培养箱培养,5天后进行计数。

1.3.5 土壤微生物群落结构的测定 土壤DNA参考E.Z.N.A.TM土壤DNA提取试剂盒(Omega Bio-tek Omc.USA)说明书步骤进行提取。参照李家等^[29]的方法,利用CFX96TM Thermal Cycler (Bio-Rad)对土壤中腐皮镰孢菌(*Fusarium solani*)的基因拷贝数进行

实时荧光定量分析。土壤真菌多样性的测定参照王义坤等^[30]的方法。

1.4 数据分析

数据利用 Microsoft Excel 2010 和 Graphpad Prism 进行计算作图, 用 SPSS 23.0 进行比较均值、单因素方差分析 (One-way ANOVA), 采用邓肯氏新复极差法进行差异显著性比较 ($\alpha = 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同处理对平邑甜茶幼苗生物量的影响

过硫酸铵处理 (T1)、过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 (T2)、过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 (T3), 均可以促进平邑甜茶幼苗的生长, 其中以处理后施用颗粒菌肥 (T2) 效果最优 (表 1)。与对照相比, T1 处理在株高、地径、鲜质量、干质量上分别增加 26.8%、82.4%、117.2%、120.5%; T2 处理分别增加 35.5%、92.7%、133.1%、138.0%; T3 处理分别增加 32.6%、90.0%、126.6%、129.5%。

2.2 不同处理对连作土壤酶活性的影响

表 2 表明, 过硫酸铵加颗粒状或粉末状木霉菌

肥处理均能显著提高土壤中相关酶的活性。T1 处理土壤过氧化氢酶、磷酸酶、脲酶和蔗糖酶活性与对照相比均显著降低, 配合菌肥后 (T2、T3 处理) 显著增加了土壤酶活性, T2 处理过氧化氢酶、磷酸酶、脲酶、蔗糖酶的活性分别比 CK 提高了 56.32%、92.85%、186.67%、45.41%, T3 处理分别增加了 43.68%、83.89%、165.56%、32.96%。除磷酸酶活性外, T2 处理土壤酶活性均显著高于 T3。

2.3 不同处理对根系呼吸速率及根系保护酶活性的影响

图 1 显示, 老龄苹果园土壤进行过硫酸铵处理 (T1) 以及处理后加施木霉菌肥 (T2、T3) 均可显著提高平邑甜茶根系呼吸速率和保护酶 (CAT) 活性, T2 和 T3 处理的提升效果显著高于 T1 处理, 颗粒菌肥处理 (T2) 的效果又显著好于粉末菌肥处理 (T3)。T2 处理根系呼吸速率分别是 CK、T1 和 T3 的 1.41、1.23、1.09 倍, T2 处理根系保护酶 (CAT) 活性分别是 CK、T1 和 T3 的 2.80、1.42、1.08 倍。

2.4 不同处理对土壤微生物数量的影响

土壤强氧化处理显著降低了 3 类微生物数量,

表 1 不同处理对平邑甜茶幼苗生物量的影响

Table 1 Plant biomass of *Malus hupehensis* Rehd. under different orchard soil treatments

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	地径 Stem diameter (mm)	鲜质量 Fresh weight (g/plant)	干质量 Dry weight (g/plant)
CK	62.30 ± 0.98 c	5.58 ± 0.18 c	32.61 ± 1.32 c	13.31 ± 0.60 c
T1	79.00 ± 1.50 b	10.18 ± 0.26 b	70.82 ± 0.36 b	29.35 ± 0.76 b
T2	84.43 ± 0.83 a	10.75 ± 0.13 a	76.00 ± 1.99 a	31.67 ± 1.82 a
T3	82.60 ± 1.85 a	10.60 ± 0.23 a	73.91 ± 0.77 a	30.55 ± 0.31 ab

注 (Note): CK—连作果园土壤 Replanted orchard soil; T1—过硫酸铵处理 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ in soil; T2—过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ and granular *Trichoderma* fertilizer; T3—过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ plus powdered *Trichoderma* fertilizer; 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Values followed by different letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

表 2 不同处理土壤酶活性

Table 2 Soil enzyme activities of different treatments

处理 Treatment	过氧化氢酶 Catalase (mL/g)	磷酸酶 Phosphatase [mg/(g·d)]	脲酶 Urease [mg/(g·d)]	蔗糖酶 Sucrase [mg/(g·d)]
CK	0.174 ± 0.002 c	8.792 ± 0.590 b	0.090 ± 0.003 c	6.778 ± 0.098 c
T1	0.160 ± 0.002 d	7.612 ± 0.295 c	0.076 ± 0.002 d	6.413 ± 0.057 d
T2	0.272 ± 0.006 a	16.955 ± 0.742 a	0.258 ± 0.001 a	9.856 ± 0.152 a
T3	0.250 ± 0.005 b	16.168 ± 0.511 a	0.239 ± 0.002 b	9.012 ± 0.043 b

注 (Note): CK—连作果园土壤 Replanted orchard soil; T1—过硫酸铵处理 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ in soil; T2—过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ and granular *Trichoderma* fertilizer; T3—过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ plus powdered *Trichoderma* fertilizer; 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Values followed by different letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

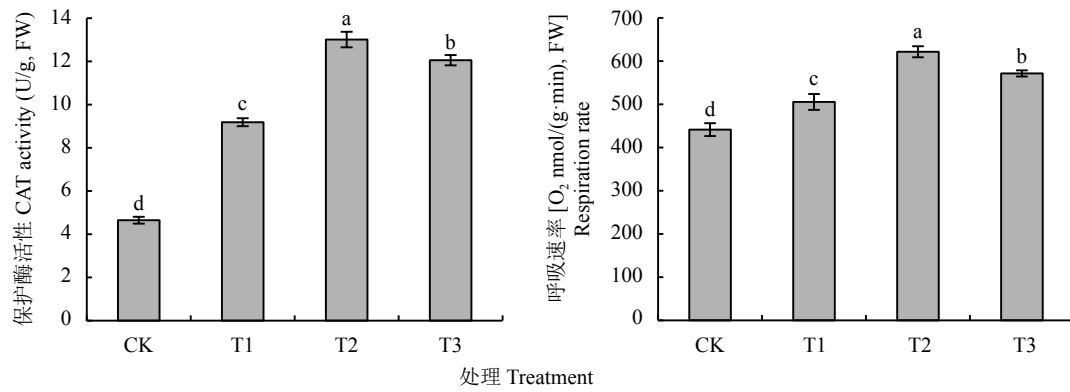


图 1 不同处理对根系呼吸速率及根系保护酶活性的影响

Fig. 1 Protective enzyme activity and respiration rate of root under different treatments

[注 (Note): CK—连作果园土壤 Replanted orchard soil; T1—过硫酸铵处理 Applying (NH₄)₂S₂O₈ in soil; T2—过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ and granular *Trichoderma* fertilizer; T3—过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ plus powdered *Trichoderma* fertilizer; 柱上不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Different letters above the bars indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).]

配合施用木霉菌肥后显著增加了细菌、放线菌数量,进一步显著降低了腐皮镰孢菌基因的拷贝数(表3)。T2、T3处理的土壤腐皮镰孢菌数量无显著差异,但细菌数量分别是CK的2.18、2.55倍,放线菌数量分别是对照的1.71和1.53倍,T2处理的放线菌数量又显著高于T3。

2.5 不同处理对微生物群落结构的影响

由图2可知,对照组在镰孢菌属(*Fusarium*)、腐质霉属(*Humicola*)、被孢霉属(*Mortierella*)、链格孢属(*Alternaria*)、木霉属(*Trichoderma*)、芽枝霉属(*Cladosporium*)等菌属上有较高的丰度。

表4可以看出,与CK相比,3个处理土壤的链

格孢属和芽枝霉属的相对丰度都显著降低,其中T2处理的链格孢属相对丰度显著下降92.87%;T1、T3处理显著降低镰孢菌属相对丰度,其中T3处理镰孢菌属相对丰度显著降低了64.18%,T2处理的降低效果未达显著水平;T1处理对木霉属相对丰度没有显著影响,T2、T3处理则显著提高了木霉属的相对丰度,相比于CK,提高幅度分别达58.8%、43.6%。表明,施用木霉菌肥能显著降低有害菌属的相对丰度,在过硫酸铵处理后的土壤上的施用效果更好。

2.6 土壤真菌群落的PCoA和NMDS分析

用主坐标分析(PCoA)和非度量多维尺度分析(NMDS)对不同处理间微生物多样性差异进行分析(图3)。在PCoA分析中,T1、T2、T3处理与对照完全分开且距离较远,表明不同处理间真菌群落多样性差异显著;颗粒与粉末状菌肥的距离虽也存在差别,但差异并不显著;在PCoA中PC1值为27.82%,PC2值为18.85%,两者共解释46.67%的多样性差异。NMDS分析结果与PCoA分析结果相似,两者的分析共同验证了不同处理土壤真菌群落组成上的明显差异。

3 讨论

根系是植物的主要器官,其作用是吸收植株生长的必要性营养及水分。本研究中,过硫酸铵与木霉菌肥联用可使连作平邑甜茶维持相对较好的根系活力,其对根系的生长促进效果比单纯的过硫酸铵处理更为显著,这与徐少卓等^[21]和周开胜^[31]分别利用

表 3 不同处理的土壤微生物数量

Table 3 The quantity of soil microorganisms under different treatments

处理 Treatment	细菌 Bacteria ($\times 10^5$ cfu/g)	放线菌 Actinomycetes ($\times 10^5$ cfu/g)	腐皮镰孢菌拷贝数 <i>F. solani</i> copies ($\times 10^{11}$)
CK	7.33 $\pm$ 0.58 c	12.67 $\pm$ 1.53 c	0.82 $\pm$ 0.02 a
T1	4.33 $\pm$ 0.58 d	9.00 $\pm$ 1.00 d	0.46 $\pm$ 0.01 b
T2	16.00 $\pm$ 1.00 b	21.67 $\pm$ 0.58 a	0.13 $\pm$ 0.01 c
T3	18.67 $\pm$ 0.58 a	19.33 $\pm$ 0.58 b	0.14 $\pm$ 0.03 c

注 (Note): CK—连作果园土壤 Replanted orchard soil; T1—过硫酸铵处理 Applying (NH₄)₂S₂O₈ in soil; T2—过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ and granular *Trichoderma* fertilizer; T3—过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ plus powdered *Trichoderma* fertilizer; 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Values followed by different letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

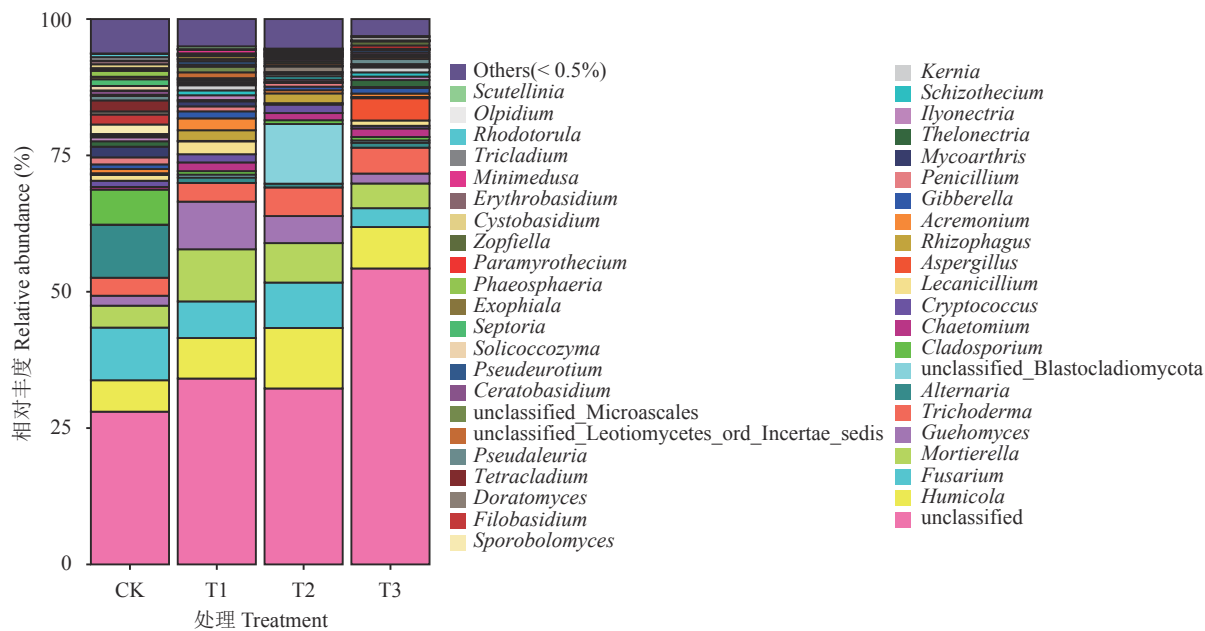


图 2 不同处理条件下属水平土壤真菌群落的相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of soil fungi communities under different treatments

[注 (Note): CK—连作果园土壤 Replanted orchard soil; T1—过硫酸铵处理 Applying (NH₄)₂S₂O₈ in soil; T2—过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ and granular *Trichoderma* fertilizer; T3—过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ plus powdered *Trichoderma* fertilizer.]

表 4 不同处理下土壤真菌群落在属水平的相对丰度 (%)

Table 4 Relative abundance of soil fungal communities at genus level under different treatments

处理 Treatment	链格孢属 <i>Alternaria</i>	镰孢属 <i>Fusarium</i>	芽枝霉属 <i>Cladosporium</i>	木霉属 <i>Trichoderma</i>
CK	9.68 ± 3.25 a	9.66 ± 2.09 a	6.42 ± 2.44 a	3.30 ± 0.62 b
T1	0.99 ± 0.09 b	6.72 ± 0.57 b	0.64 ± 0.19 b	3.43 ± 0.87 b
T2	0.69 ± 0.08 b	8.33 ± 1.98 ab	0.70 ± 0.16 b	5.24 ± 0.21 a
T3	0.90 ± 0.05 b	3.46 ± 0.24 c	0.63 ± 0.17 b	4.74 ± 0.71 a

注 (Note): CK—连作果园土壤 Replanted orchard soil; T1—过硫酸铵处理 Applying (NH₄)₂S₂O₈ in soil; T2—过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ and granular *Trichoderma* fertilizer; T3—过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 Applying (NH₄)₂S₂O₈ plus powdered *Trichoderma* fertilizer; 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Values followed by different letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

强氧化剂对连作苹果和西瓜进行播前土壤处理所得结果一致。过硫酸铵衍生出来的·SO₄⁻和·OH能氧化降解土壤中残留的农药和化肥大分子物质,优化土壤环境^[14],在此基础上加施木霉菌肥,提高了木霉菌在作物根际的定殖效率,且木霉菌分泌的抗生素和抗菌肽类物质,提高了植株的根系活力和抗逆能力,进而促进了平邑甜茶幼苗株高、地径等的生长^[32-33]。吴晓儒等^[34]研究发现,木霉菌颗粒剂具有良好的生物防治效果及增产作用,用棘孢木霉菌颗粒剂处理土壤后对玉米茎基腐病有65.57%的防治效果。李春杰等^[35]研究发现在土壤中使用22.5 kg/hm²的木霉颗粒剂,能显著降低大豆根腐病的发生,促进植株生

长。此外,本研究发现,肥料形态及土壤条件能影响木霉菌肥改善苹果土壤连作障碍程度,在同样的过硫酸铵处理前提下,颗粒状菌肥对植株生长的促进效果要高于粉末状菌肥,原因可能是颗粒状菌肥与土壤接触面小,释放效果好,在土壤周围可形成养分浓度差,有利于根系对土壤养分的吸收和输送,提高根系活力,进而促进平邑甜茶幼苗的生长,这与翁锦周^[36]、汪建妹等^[37]、刘会^[23]所研究的颗粒状菌肥效果优于粉末状菌肥结果一致。

土壤酶类主要来自土壤微生物和植物根系的分泌物,其活性能够反映土壤理化性质的变化^[38]。木霉真菌的存在有助于土壤酶活性的提高,从而改善土

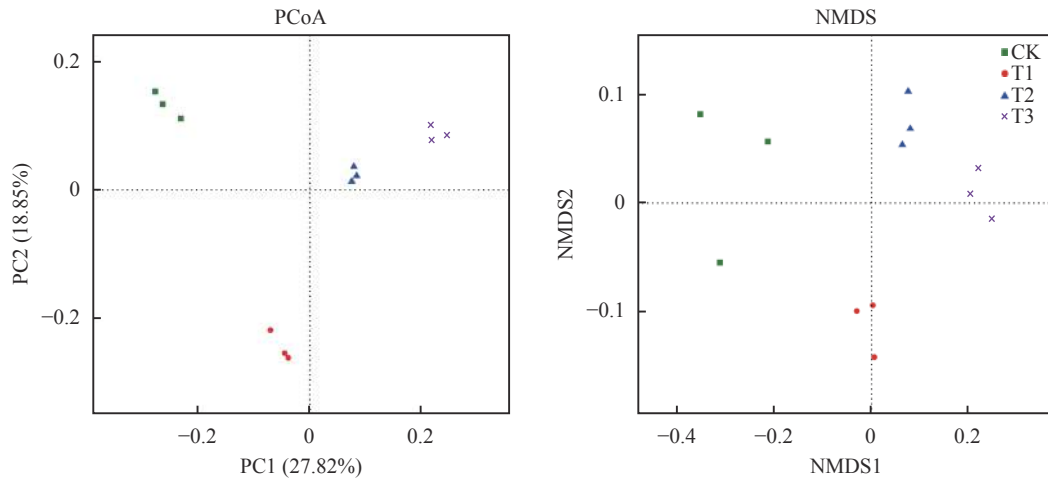


图3 不同处理土壤真菌群落主坐标分析 (PCoA) 和非度量多维尺度分析 (NMDS)

Fig. 3 PCoA and NMDS analysis of soil fungal communities under different treatments

[注 (Note): CK—连作果园土壤 Replanted orchard soil; T1—过硫酸铵处理 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ in soil; T2—过硫酸铵加颗粒状木霉菌肥 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ and granular *Trichoderma* fertilizer; T3—过硫酸铵加粉末状木霉菌肥 Applying $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ plus powdered *Trichoderma* fertilizer.]

壤状况^[39]。本研究发现过硫酸铵处理后的土壤酶活性降低,但施入木霉菌肥后相关酶活性均有不同程度恢复。前人研究发现木霉菌肥通过增加植物相关防御酶的合成和积累,促进土壤氮素的转换和代谢,从而更有利于土壤新环境的重建^[21-30]。在同样过硫酸铵土壤处理下,增施颗粒状或粉末状木霉菌肥处理均能显著提高土壤中相关酶的活性,在不同菌肥形态中,除磷酸酶活性外,颗粒菌肥处理土壤酶活性均显著高于粉末菌肥处理,推测是粉末菌肥初期会给土壤添加大量的有益菌,但其持久性较差,其效果仅能维持较短时间;颗粒菌肥的缓慢释放能够延长土壤的改良效果,不断改善有益菌的生存条件,提高微生物生存活性,从而显著提高土壤酶活性。

土壤中微生物的数量和群落结构组成对土壤肥力和作物生长有着重要的影响。本试验土壤强氧化处理显著降低了3类微生物数量,配合施用木霉菌肥后显著增加了细菌、放线菌数量,进一步显著降低了腐皮镰孢菌基因的拷贝数,推测可能是过硫酸铵的强氧化能力起到了土壤消毒的效果,增施的木霉菌肥改善土壤微生物群落结构。在真菌属水平上,链格孢属、镰孢菌属、芽枝霉属等是引起植物病害的真菌类群,过硫酸铵加施木霉菌肥能显著降低这些菌群的相对丰度,增强对病原菌的抑制性,一方面与过硫酸铵的强氧化作用有关^[40-41],另一方面是通过木霉菌的抗生、重寄生、溶菌和竞争作用来实现^[42]。颗粒状菌肥能不断地改善土壤环境,可显著消减链格孢属对环境 and 寄主的依赖度;粉末菌肥有

助于降低镰孢菌属的相对丰度。

4 结论

过硫酸铵加施木霉菌肥可有效缓解连作土壤对平邑甜茶幼苗的生长抑制,降低土壤中有害真菌数量,优化土壤微生物群落结构,减轻苹果连作障碍现象,以过硫酸铵加施颗粒菌肥效果更显著。本研究仅在盆栽试验中探讨了过硫酸铵处理后加施木霉菌肥对平邑甜茶的影响,其具体实用效果还需进行大田试验验证。

参考文献:

- [1] 陈学森,韩明玉,苏桂林,等.当今世界苹果产业发展趋势及我国苹果产业优质高效发展意见[J].果树学报,2010,27(4):598-604.
Chen X S, Han M Y, Su G L, et al. Discussion on today's world apple industry trends and the suggestions on sustainable and efficient development of apple industry in China[J]. Journal of Fruit Science, 2010, 27(4): 598-604.
- [2] Mazzola M, Manici L M. Apple replant disease: Role of microbial ecology in cause and control[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2012, 50: 45-65.
- [3] Hoestra H. General remarks on replant disease[J]. *Acta Horticulture*, 1988, 233: 11-16.
- [4] 毛志泉,尹承苗,陈学森,等.我国苹果产业降本增效关键技术V:苹果连作障碍防控技术[J].中国果树,2017,(5):1-4,14.
Mao Z Q, Yin C M, Chen X S, et al. Prevention and control technology of apple replant disease[J]. *China Fruits*, 2017, (5): 1-4, 14.
- [5] 尹承苗,王玫,王嘉艳,等.苹果连作障碍研究进展[J].园艺学报,2017,44(11):2215-2230.

- Yin C M, Wang M, Wang J Y, *et al.* The research advance on apple replant disease[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, 44(11): 2215–2230.
- [6] 冯翠娥, 岳思君, 简阿妮, 等. 硒砂瓜连作对土壤真菌群落结构的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2019, 27(4): 537–544.
- Feng C E, Yue S J, Jian A N, *et al.* The effect of continuous cropping of selenium melon on soil fungal community structure[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2019, 27(4): 537–544.
- [7] Nguvo K J, Gao X Q. Weapons hidden underneath: Bio control agents and their potentials to activate plant induced systemic resistance in controlling crop *Fusarium* diseases[J]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2019, 126(3): 177–190.
- [8] 华菊玲, 刘光荣, 黄劲松. 连作对芝麻根际土壤微生物群落的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(9): 2936–2942.
- Hua J L, Liu G R, Huang J S. Effect of continuous cropping of sesame on rhizospheric microbial communities[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(9): 2936–2942.
- [9] 王功帅. 环渤海连作土壤真菌群落结构分析及混作葱减轻苹果连作障碍的研究[D]. 山东泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2018.
- Wang G S. Studies on fungal community in replanted soil around Bohai Gulf and alleviation apple replanted disease by mixed cropping with *Allium fistulosum* L.[D]. Tai'an, Shandong: PhD Dissertation of Shandong Agricultural University, 2018.
- [10] Kelderer M, Manici L M, Caputo F, *et al.* Planting in the 'inter-row' to overcome replant disease in apple orchards: A study on the effectiveness of the practice based on microbial indicators[J]. *Plant and Soil*, 2012, 357: 381–393.
- [11] 崔迪, 王继华, 陈捷, 等. 链格孢属真菌对农作物的危害[J]. *哈尔滨师范大学自然科学学报*, 2005, 21(3): 87–91.
- Cui D, Wang J H, Chen J, *et al.* The danger of alternaria to the crops[J]. *Natural Science Journal of Harbin Normal University*, 2005, 21(3): 87–91.
- [12] 姜伟涛, 陈冉, 王海燕, 等. 棉隆熏蒸处理对平邑甜茶幼苗生长和生物学特性及土壤环境的影响[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(9): 3085–3092.
- Jiang W T, Chen R, Wang H Y, *et al.* Effects of dazomet fumigation on growth, biological characteristics of *Malus hupehensis* seedlings and soil environment[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(9): 3085–3092.
- [13] Anipsitakis G P, Dionysiou D D. Degradation of organic contaminants in water with sulfate radicals generated by the conjunction of peroxymonosulfate with cobalt[J]. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37(20): 4790–4797.
- [14] Tsitonaki A, Petri B, Crimi M, *et al.* In situ chemical oxidation of contaminated soil and groundwater using persulfate: A review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2010, 40(1): 55–91.
- [15] 谭筱. 过硫酸铵结合催化剂对三种农药的氧化降解研究[D]. 湖南: 湖南农业大学硕士学位论文, 2013.
- Tan X. Studies on the oxidation degradation of three pesticides by the ammonium persulfate combination with catalysts[D]. Hu'nan: MS Thesis of Hunan Agricultural University, 2013.
- [16] Michael-Kordatou I, Iacovou M, Frontistis Z, *et al.* Erythromycin oxidation and ERY-resistant *Escherichia coli* inactivation in urban wastewater by sulfate radical-based oxidation process under UV-C irradiation[J]. *Water Research*, 2015, 85: 346–358.
- [17] 周佳欣, 姚春霞, 孙明星, 等. 过硫酸盐降解土壤中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素的研究[J]. *上海农业学报*, 2018, 34(3): 11–15.
- Zhou J X, Yao C X, Sun M X, *et al.* Degradation of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol with persulfate in soil system[J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2018, 34(3): 11–15.
- [18] 徐源洲, 张力浩, 魏志敏, 等. 硫酸根自由基高级氧化技术对污染场地多环芳烃的修复效果研究[J]. *土壤*, 2020, 52(3): 532–538.
- Xu Y Z, Zhang L H, Wei Z M, *et al.* Effects of sulfate radical advanced oxidation technology on PAHs remediation in contaminated sites[J]. *Soils*, 2020, 52(3): 532–538.
- [19] 田给林, 严婷婷, 毕艳孟, 等. 草莓连作土壤灭菌与施用有机肥对根际土壤酚酸及土壤酶活性的影响[J]. *园艺学报*, 2015, 42(10): 2039–2048.
- Tian G L, Yan T T, Bi Y M, *et al.* Effects of continuous cropping soil sterilization and applying of different fertilizer on phenolic acids in rhizosphere soil of the strawberry plants and soil enzyme activities[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(10): 2039–2048.
- [20] 庄敬华, 陈捷, 杨长成, 等. 生防木霉菌生物安全性评价[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(4): 715–720.
- Zhuang J H, Chen J, Yang C C, *et al.* Evaluation of biocontrol *Trichoderma* on biology security[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(4): 715–720.
- [21] 徐少卓, 王晓芳, 陈学森, 等. 高锰酸钾消毒后增施木霉菌肥对连作土壤微生物环境及再植平邑甜茶幼苗生长的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2018, 24(5): 1285–1293.
- Xu S Z, Wang X F, Chen X S, *et al.* Effect of *Trichoderma* fertilizer applied after disinfected with KMnO_4 on the soil microbial environment and replantation of *Malus hupehensis* Rehd.[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2018, 24(5): 1285–1293.
- [22] 王义坤, 孙琪然, 段亚楠, 等. 三种菌肥对苹果连作土壤环境及平邑甜茶幼苗生长的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(4): 630–638.
- Wang Y K, Sun Q R, Duan Y N, *et al.* Effect of three microbial fertilizers on environmental improvement of apple replanted soil and growth of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(4): 630–638.
- [23] 刘会. 不同基质和粒径微生物菌肥对苹果生长发育和氮素利用的影响[D]. 山东泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2017.
- Liu H. Effects of different substrates and particle size of microbial fertilizer on the growth of apple and nitrogen utilization[D]. Tai'an, Shandong: MS Thesis of Shandong Agricultural University, 2017.
- [24] 蔡树美, 于斌, 吴景, 等. 造粒工艺对商品有机肥养分释放动态的影响[J]. *天津农业科学*, 2008, (4): 30–33.
- Cai S M, Yu B, Wu J, *et al.* Effects of granulation process on nutrient release of organic fertilizers[J]. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2008, (4): 30–33.
- [25] 毛志泉, 王丽琴, 沈向, 等. 有机物料对平邑甜茶实生苗根系呼吸强度的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(2): 171–175.
- Mao Z Q, Wang L Q, Shen X, *et al.* Effect of organic materials on respiration intensity of annual *Malus hupehensis* Rehd. root

- system[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2004, 10(2): 171–175.
- [26] Singh B K, Sharma S R, Singh B. Antioxidant enzymes in cabbage: Variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 124(1): 9–13.
- [27] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986. 274–340.
- Guan S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986. 274–340.
- [28] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- Cheng L J, Xue Q H. Microbiology laboratory experiment technology[M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000.
- [29] 李家家, 相立, 潘凤兵, 等. 平邑甜茶幼苗与葱混作对苹果连作土壤环境的影响[J]. 园艺学报, 2016, 43(10): 1853–1862.
- Li J J, Xiang L, Pan F B, *et al.* Effects of *Malus hupehensis* seedlings and *Allium fistulosum* mixed cropping on replanted soil environment [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(10): 1853–1862.
- [30] 王义坤, 苏厚文, 段亚楠, 等. 三种菌肥对连作平邑甜茶根系生长和土壤真菌群落多样性的促进效应[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(2): 316–324.
- Wang Y K, Su H W, Duan Y N, *et al.* Improvement of root development of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings and soil fungal diversity under replant condition by three kinds of biofertilizers[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(2): 316–324.
- [31] 周开胜. 厌氧土壤灭菌修复西瓜连作退化土壤[J]. *浙江农业学报*, 2017, 29(7): 1179–1188.
- Zhou K S. Remediation of watermelon continuous cropping soil by anaerobic soil disinfestation[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2017, 29(7): 1179–1188.
- [32] Harman G E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp.[J]. *Phytopathologym*, 2006, 96(2): 190–194.
- [33] Zhang F G, Xu X X, Huo Y Q, *et al.* *Trichoderma*-inoculation and mowing synergistically altered soil available nutrients, rhizosphere chemical compounds and soil microbial community, potentially driving alfalfa growth[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3241.
- [34] 吴晓儒, 陈硕闻, 杨玉红, 等. 木霉菌颗粒剂对玉米茎腐病防治的应用[J]. *植物保护学报*, 2015, 42(6): 1030–1035.
- Wu X R, Chen S W, Yang Y H, *et al.* Application of *Trichoderma* granules in the control of corn stalk rot[J]. *Journal of Plant Protection*, 2015, 42(6): 1030–1035.
- [35] 李春杰, 许艳丽, 赵志权, 等. 木霉颗粒剂对大豆根腐病的防治作用[J]. *大豆科学*, 2009, 28(3): 499–506.
- Li C J, Xu Y L, Zhao Z Q, *et al.* Control effect of *Trichoderma* spp. granules on soybean root rot[J]. *Soybean Science*, 2009, 28(3): 499–506.
- [36] 翁锦周. 粉状和粒状甘蔗专用有机复混肥肥效比较[J]. *福建农业科技*, 1998, (6): 3–5.
- Weng J Z. Comparison of fertilizer efficiency of powdered and granular organic compound fertilizers[J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 1998, (6): 3–5.
- [37] 汪建妹, 叶静, 马军伟, 等. 有机无机复混肥的含水量及形状对其贮存性能及肥效的影响[J]. *浙江农业学报*, 2005, 17(5): 307–310.
- Wang J M, Ye J, Ma J W, *et al.* Effects of water content and shape of organic-inorganic compound fertilizer on its storage quality[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2005, 17(5): 307–310.
- [38] 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.
- Cao H, Sun H, Yang H, *et al.* A review of soil enzyme activity and its indication for soil quality[J]. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 2003, 9(1): 105–109.
- [39] 王涛, 乔卫花, 李玉奇, 等. 轮作和微生物菌肥对黄瓜连作土壤理化性状及生物活性的影响[J]. *土壤通报*, 2011, 42(3): 578–583.
- Wang T, Qiao W H, Li Y Q, *et al.* Effects of rotation and microbial fertilizers on the properties of continuous cucumber cropping soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2011, 42(3): 578–583.
- [40] 李嘉怡, 隋铭皓, 盛力, 等. H_2O_2 催化氧化杀菌消毒的发展前景[J]. *水处理技术*, 2015, 41(1): 9–14.
- Li J Y, Sui M H, Sheng L, *et al.* Development prospect of H_2O_2 catalytic oxidation sterilization[J]. *Technology of Water Treatment*, 2015, 41(1): 9–14.
- [41] 毛志泉, 项安颀, 姜伟涛, 等. 一种利用过硫酸铵复合剂防控苹果、桃重茬障碍方法[P]. 中国专利: 111418605A, 2020–07–17.
- Mao Z Q, Xiang A D, Jiang W T, *et al.* A method of using $(NH_4)_2S_2O_8$ compound agent to prevent and control apple and peach continuous cropping obstacle[P]. China Patent: 111418605A, 2020–07–17.
- [42] 徐文, 黄媛媛, 黄亚丽, 等. 木霉-植物互作机制的研究进展[J]. *中国生物防治学报*, 2017, 33(3): 408–414.
- Xu W, Huang Y Y, Huang Y L, *et al.* Advances on mechanism of *Trichoderma*-plant interaction[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2017, 33(3): 408–414.