

海藻生物有机肥对苹果连作土壤环境及新疆野苹果幼苗生物量的影响

李园园,姜怀飞

(青岛明月海藻集团有限公司,山东青岛 266400)

摘要:探讨海藻生物有机肥对减轻苹果连作障碍的效果,为生产中应用提供理论依据。以苹果砧木新疆野苹果 [*Malus sieversii* (Ledeb.) Roem] 为试材,盆栽条件下,研究加入 0.5%、1.0% 和 1.5% 的海藻生物有机肥对苹果连作土壤环境和新疆野苹果幼苗的影响。结果表明,海藻生物有机肥能显著提高新疆野苹果幼苗的干鲜重。海藻生物有机肥的施入提高了连作土中细菌、放线菌数量,降低了真菌总量,同时,还降低了连作土中主要酚酸类物质的含量。因此海藻生物有机肥有减轻苹果连作障碍的作用。

关键词:海藻生物有机肥;连作;微生物;酚酸

中图分类号:S661.1

文献标志码:A

论文编号:2013-2772

Effects of Seaweed Biologic Organic Fertilizer on Continuous Cropping Soil Environment and *Malus sieversii* (Ledeb.) Roem Seedling Biomass

Li Yuanyuan, Jiang Huaifei

(Qingdao Bright Moon Seaweed Group Co, Ltd, Qingdao Shandong 266400)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the mechanisms and effects of seaweed biologic organic fertilizer on the plant growth of *Malus sieversii* (Ledeb.) Roem. seedlings under replant conditions. Before the *Malus sieversii* (Ledeb.) Roem. seedlings were planted in pots, the seaweed biologic organic fertilizer was added to pots in four rates: 0, 0.5%, 1.0% and 1.5% of seaweed biologic organic fertilizer per kilogram of replant soil. The results showed that seaweed biologic organic fertilizer applied to replant soil obviously enhanced the dry and fresh weight. The bacteria and actinomyces population quantities were increased by seaweed biologic organic fertilizer was added to soil, and the amount of fungi was decreased. Moreover, seaweed biologic organic fertilizer decreased the total of phenolic acids. So the seaweed biological organic fertilizer can reduce the apple continuous cropping obstacle.

Key words: seaweed biologic organic fertilizer; replant; microorganism; phenolic acid

0 引言

苹果连作障碍(再植病)普遍发生,给生产带来巨大损失,严重制约了苹果产业的持续发展,连作障碍常表现为生长发育状况变差,叶片变小、根系易感病、产量下降、病虫害加重等^[1-2]。研究不同方法减轻苹果连作障碍具有重要的生产实践意义。研究表明苹果连作障碍主要由土壤有害生物、土壤营养元素亏缺或失调、自毒物质等因素引起,已证实酚酸类化合物是植物根

系分泌物中的主要自毒物质。目前,在生产上解决连作障碍的方法主要包括选择抗性砧木、轮作、土壤消毒(蒸汽消毒、日晒消毒和化学消毒等)、生物防治(如引入拮抗菌)、增施有机肥等措施^[3-4]。其中,生物防治、增施有机肥因其环保、改良土壤、效果效益明显、更易商业化等优点正被逐步应用^[5-6]。生物有机肥能否减轻苹果连作障碍,关键在于微生物在土壤中的定殖情况,不同有机肥载体影响微生物在土壤中的定殖,以海藻肥

基金项目:山东省农业重大应用技术创新课题。

第一作者简介:李园园,女,1981年出生,山东章丘人,工程师,硕士,主要从事海洋功能性农用生物制品的开发与研究。通信地址:266400 青岛胶南市珠山南路39号 青岛明月海藻集团有限公司, Tel: 0532-86612165, E-mail: myzhflyy@126.com。

收稿日期:2013-10-24, 修回日期:2013-12-23。

为载体的生物有机肥能否更好地减轻苹果连作障碍尚未见报道。笔者通过施用海藻生物有机肥,探讨其对连作土壤环境的影响,以期丰富防控苹果连作障碍的技术措施。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

试验于2012—2013年在青岛明月海藻集团有限公司试验基地进行。连作土取自山东莱西苹果工程技术研究中心苹果基地20年生‘红富士’苹果园,于树干周围1 m²、深40 cm范围取土,多点随机取样,混匀使用。海藻生物有机肥是青岛明月海藻集团有限公司生产的商品菌肥,制备过程为100%纯海藻渣经过发酵腐熟,混配一定比例的拮抗菌菌粉,达到生物有机肥标准。试验设4个处理:连作土加入0.5%海藻生物有机肥(T₁)、连作土加入1%海藻生物有机肥(T₂)、连作土加入1.5%海藻生物有机肥(T₃),不加海藻生物有机肥为CK。每个处理设30个泥瓦盆。新疆野苹果[*Malus sieversii* (Ledeb.) Roem]种子由西北农林科技大学园艺学院提供,将种子层积50天左右,待种子露白后,催芽,于2013年3月下旬分别播种于不同处理的泥瓦盆中,每盆3株,定苗后每盆保留1株,正常灌溉管理。

取样时间6月底、8月底,每次每处理随机选取3盆。

1.2 测定方法

1.2.1 土壤微生物的测定 微生物的测定采用平板稀释培养计数法^[7]。

取10 g新鲜过筛土壤加到盛有90 mL无菌水的锥形瓶中,封口并将其放在摇床震荡10 min,待土壤分散开混合均匀后,静止20~30 s,即为10⁻¹稀释液,用移液枪吸取1 mL 10⁻¹稀释液至盛有9 mL无菌水的试管中,震荡摇匀,即为10⁻²稀释液,依次类推,每次更换枪头连续稀释,则制成10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵等一系列的土壤稀释液。

细菌的培养使用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌的培养使用马丁氏培养基,放线菌的培养采用改良高氏1号培养基。

1.2.2 土壤有机质的测定 有机质的测定采用重铬酸钾容量法-稀释热法^[8]。

准确称取0.5 g土壤样品于500 mL的三角瓶中,然后准确加入1 mol/L(1/6 K₂Cr₂O₇)溶液10 mL于土壤样品中,转动瓶子使之混合均匀,然后加浓H₂SO₄ 20 mL,将三角瓶缓缓转动1 min,促使混合以保证试剂与土壤充分作用,并在石棉板上放置约30 min,加水稀释至250 mL,加3~4滴邻菲罗啉指示剂,用0.5 mol/L

FeSO₄标准溶液滴定至近终点时,溶液颜色由绿变成暗绿色,逐渐加入FeSO₄直至生成砖红色为止。用同样的方法做空白测定(即不加土样)。

1.2.3 土壤中酚酸类物质的测定 准确称取过12目筛的风干土样100 g样品,加入适量的硅藻土,于烧杯中混合均匀。在100 mL萃取池底部垫上1片纤维素膜,将混合均匀的样品装入萃取池中,按优化好的ASE条件萃取:提取溶剂为甲醇和无水乙醇,提取温度为120℃,提取2次,加热5 min,静态提取时间为5 min,吹扫体积为60%,吹扫90 s。萃取完成后,34℃减压浓缩近干,加入1 mL甲醇复溶,过0.22 μm有机相滤膜,待HPLC分析。

色谱条件:色谱柱:Acclaim 120 C₁₈(3 μm, 150 mm×3 mm),柱温30℃。流动相:A乙腈,B水(乙酸调至pH 2.6),流速0.5 mL/min;自动进样5 μL;检测波长280 nm。

1.2.4 统计分析 试验数据采用Microsoft Excel 2003和SPSS 19.0统计软件进行统计分析。

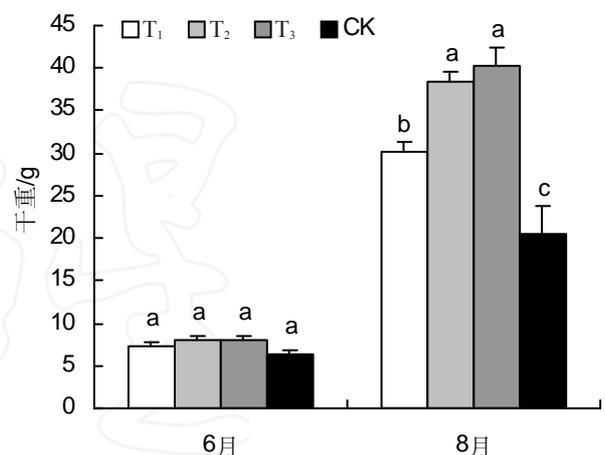
2 结果与分析

2.1 海藻生物有机肥对连作条件下苹果幼苗干鲜重的影响

由图1~2可知,连作土施入海藻生物有机肥,苹果幼苗的干重鲜重均有所增加,而且施入有机肥的量与干鲜重成正相关。在6月,T₁、T₂、T₃与CK相比干鲜重无显著性差异,在8月,表现为T₃>T₂>T₁>CK。处理与对照相比,干鲜重增长明显,T₁、T₂、T₃生物量分别为对照的1.46、1.87、1.95倍。

2.2 海藻生物有机肥对连作条件下土壤微生物的影响

由图3、5可知,施入海藻生物有机肥对连作土壤



在同一表内,数据后不同小写字母分别表示差异达0.05显著水平。下同

图1 海藻生物有机肥对连作条件下苹果幼苗干重的影响

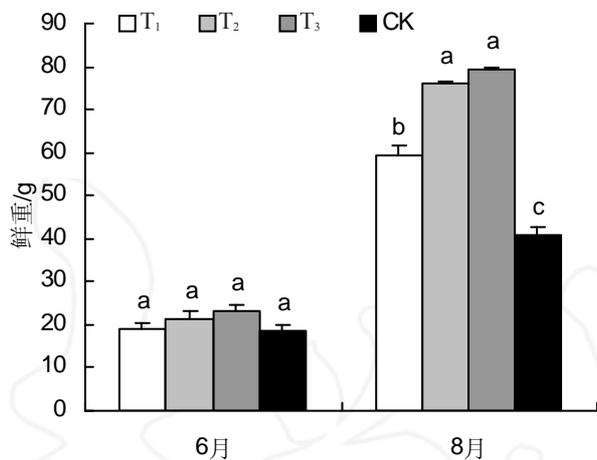


图2 海藻生物有机肥对连作条件下苹果幼苗鲜重的影响

细菌、放线菌的数量增长有促进作用,而且随着施入海藻生物有机肥数量的增加和时间的推移,菌数呈正相关。8月,细菌数量 T_1 、 T_2 、 T_3 分别为CK的1.43、2.0、2.67倍;放线菌数量 T_1 、 T_2 、 T_3 分别为CK的1.18、1.36、1.72倍。由图4可知,随着施入海藻生物有机肥的增

加和时间的推移,真菌数量持续降低,8月, T_1 、 T_2 、 T_3 真菌数量为CK的0.44、0.39、0.13倍。分析原因,海藻生物有机肥是在腐熟海藻渣的基础上添加了连作障碍的拮抗细菌和放线菌。苹果的再植障碍一个重要的生物因素就是真菌,真菌是某些地区发生果树再植障碍的重要原因,病原往往是许多真菌组成的真菌复合体,有腐霉属、柱孢属、疫霉属、立枯丝核菌等^[4]。所以,施入海藻生物有机肥的连作土壤,细菌、放线菌呈上升趋势,真菌呈下降趋势。

2.3 海藻生物有机肥对连作条件下土壤有机质含量的影响

由图6可知,施入海藻生物有机肥的量与连作土壤有机质的含量呈正相关。8月, T_1 、 T_2 、 T_3 有机质含量为CK的1.2、1.48、1.6倍。海藻生物有机肥含有丰富的海藻酸、海藻纤维、海藻多糖、高度不饱和脂肪酸、藻褐素、含氮化合物等有机化合物,是有机质的来源,对改良土壤、增加土壤有机质含量具有很好的效果。

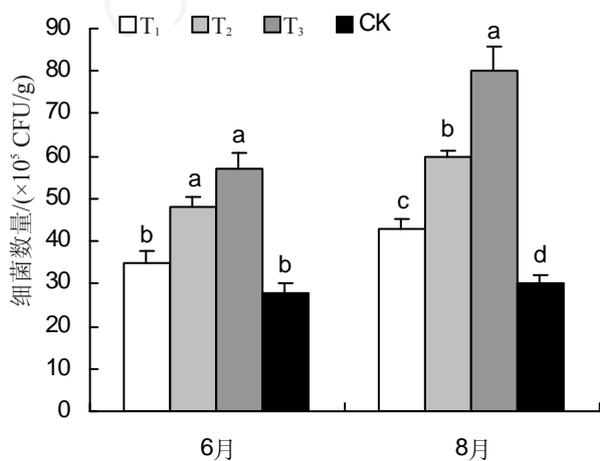


图3 海藻生物有机肥对连作土壤细菌的影响

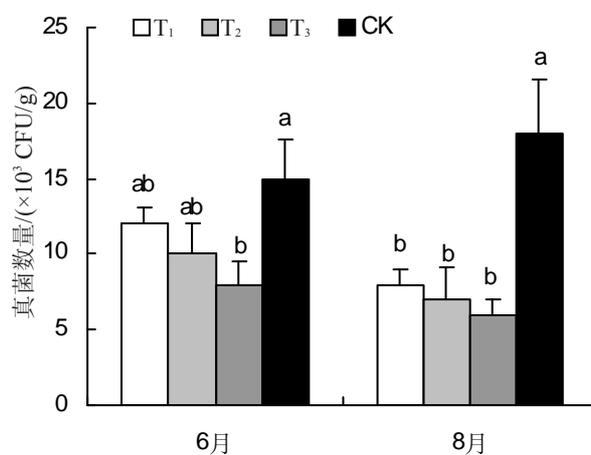


图4 海藻生物有机肥对连作土壤真菌的影响

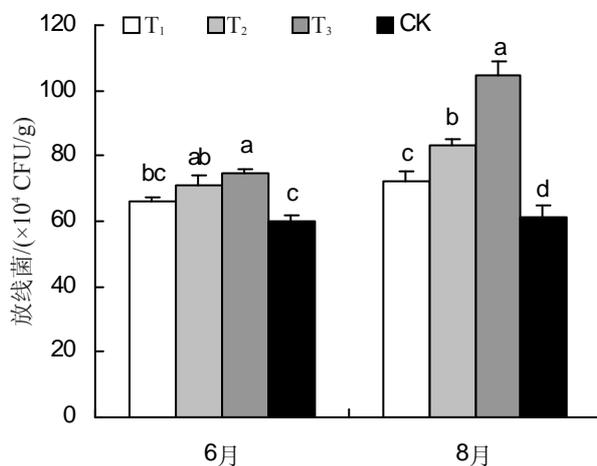


图5 海藻生物有机肥对连作土壤放线菌的影响

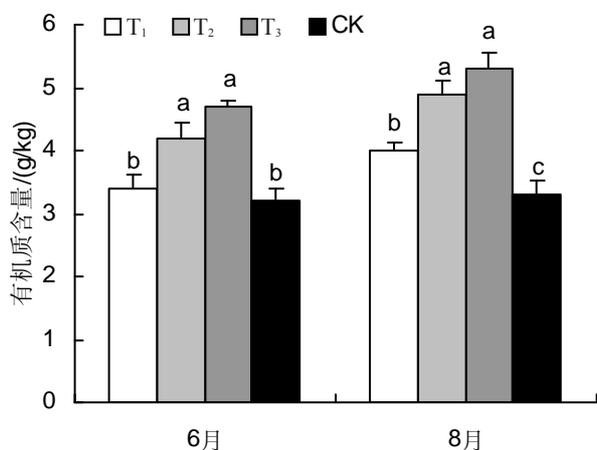


图6 海藻生物有机肥对连作土壤有机质含量的影响

2.4 海藻生物有机肥对连作土壤酚酸含量的影响

酚酸类物质是苹果再植障碍的重要原因之一。笔者通过对对羟基苯甲酸、苯甲酸、根皮苷、肉桂酸4种主要的酚酸类物质含量的检测,说明海藻生物有机肥对酚酸类物质的降解作用。由表1可知,施入不同比例的海藻生物有机肥对以上4种酚酸类物质均有不同程度的降解作用。到8月,T₁、T₂、T₃与CK相比,对羟基苯甲酸含量降低了14.1%、6.7%、18%;苯甲酸含量降低了15.95%、22.6%、43.88%;根皮苷含量降低了12.78%、13.09%、22.97%;肉桂酸含量降低了14.13%、42.75%、52.9%。海藻生物有机肥对苯甲酸和肉桂酸降解明显,T₁、T₂、T₃中,T₃降解程度最强,即海藻生物有机肥的施入量越大,酚酸类物质降解越强。

表1 海藻生物有机肥对连作土壤酚酸含量的影响

ng/10 g

时间	处理	对羟基苯甲酸	苯甲酸	根皮苷	肉桂酸
6月	T ₁	2.157±0.029b	8.807±0.009c	2.862±0.057a	0.698±0.007b
	T ₂	2.469±0.059a	9.233±0.018a	2.537±0.026b	0.816±0.010a
	T ₃	2.485±0.068a	9.046±0.032b	2.914±0.011a	0.747±0.007ab
	CK	1.803±0.009a	5.962±0.039d	2.163±0.013c	0.575±0.041c
8月	T ₁	2.035±0.027c	6.365±0.047b	9.106±0.060b	0.948±0.012b
	T ₂	2.210±0.042b	5.861±0.031c	9.073±0.050b	0.632±0.007c
	T ₃	1.941±0.028c	4.250±0.056d	8.042±0.037c	0.520±0.021d
	CK	2.369±0.069a	7.573±0.064a	10.440±0.142a	1.104±0.009a

3 结论

海藻生物有机肥对连作环境下苹果幼苗的生长具有明显的促进作用,到8月,加入0.5%、1.0%和1.5%海藻生物有机肥组苹果幼苗鲜重分别为对照组的1.46、1.87和1.95倍,具有明显的剂量-效应关系。

土壤环境指标显示海藻生物有机肥对土壤细菌、放线菌的数量增长有促进作用,随着含量的增加,2种细菌数量呈正相关。海藻生物有机肥对土壤真菌的生长具有抑制作用,且随含量的增加,真菌数量呈负相关。海藻生物有机肥与连作土壤有机质的含量呈正相关,到8月,0.5%、1.0%和1.5%3组处理分别为对照组的1.2、1.48、1.6倍。土壤酚酸含量从6月与8月数据比较分析可以看出,海藻生物有机肥对土壤4种酚酸类物质具有降解作用,降解率与施入量呈正相关。

总之苹果连作土中施入不同比例的海藻生物有机肥,可降低真菌数量和主要酚酸类物质的含量,提高细菌总量,增加植株的生物量,因此,海藻生物有机肥可以减轻苹果连作障碍。

4 讨论

16世纪英国人已开始利用海藻制作肥料,在日本、法国、加拿大等地早期就有采集海藻制作堆肥的习惯^[9],商品海藻植物生长剂于20世纪50年代在英国诞生,随后挪威、英国、南非、中国等国家开发出了一系列的产品,在农业上取得了意想不到的增产^[10]。青岛明月海藻集团有限公司从20世纪90年代开始从事海藻肥的研究和开发,是中国早期从事海藻肥开发的企业之一。海藻肥具有营养丰富、多效合一、天然的土壤调理作用、增产、抗逆性、驱虫、抗病毒、绿色环保等优点^[11]。吕汰等^[12]报道施用海藻肥可不同程度地提高作物产量,增产效果明显。海藻生物肥含有丰富的海藻多糖、腐殖质、多种矿质元素及多种植物生长调节剂(生长素、细胞分裂素、赤霉素等),可刺激植物体内非特异性活性因子的产生和调节内源激素的平衡。笔者在施用海藻生物有机肥后,可明显提高土壤有机质含量,使苹果幼苗生物量增加,T₃增加幅度最大。海藻肥可直接使土壤或通过植物使土壤增加有机质,激活土壤中的

各种微生物,这些生物可在植物-微生物代谢循环中起着催化剂的作用,使土壤的生物效力增加^[13]。“明月”牌海藻生物有机肥是在海藻的基础上添加了连作障碍拮抗细菌和放线菌,所以笔者施用海藻生物有机肥后,大大提高了土壤中细菌放线菌的数量。许多学者研究认为再植果树生长势弱甚至植株死亡是由于前茬果树长期栽培过程中有益微生物比例降低,有害微生物比例增多,对果树再植造成危害的病原微生物有丝核属(*Rhizoctonia*)、腐霉属(*Pythium*)、疫霉属(*Phytophthora*)、柱盘孢属(*Cylindrocarpon*)、链孢霉属(*Fusarium*)等^[4,14]。单俊伟等^[15]报道海藻生物肥对棉花枯萎、黄萎病及棉苗立枯病和向日葵核病有很好的防治效果。本研究中在连作土壤中施入海藻生物有机肥导致真菌数量的下降,原因可能有:产品中添加的拮抗菌导致病原真菌的生长受到抑制;海藻自身含有的活性物质对病原真菌的抑制作用。酚酸类物质是引起连作障碍的重要的自毒物质^[16,17],植物通过地上部淋溶、根系分泌和植株残渣在腐解等途径释放出的酚酸类物质进入土壤中^[18-20],可直接影响土壤养分状况,而且也可通过改变土壤微生物活性和病虫害而间接地影响植物生长,从而导致连作障碍^[21-23]。土壤微生物是土壤有机物转化的执行者,又是植物营养元素的活性库,是土壤中最活跃的部分,对调节化感物质的化感效应应具有关键性的作用^[24],其中土壤酚酸类物质的分解消除主要就是依赖土壤中异养微生物的大量繁殖^[25],不同的土壤环境具有不同区系的微生物,一些细菌以酚酸类物质作为专一性能源物质进行自身繁殖^[26]。本研究中施入海藻生物有机肥可降解部分酚酸类物质,原因可能有:产品的使用导致土壤中细菌和放线菌的增加和产品中本身所含有的拮抗菌对酚酸类物质的消耗;海藻自身含有的活性物质对酚酸类物质的分解。笔者只是初步了解海藻生物有机肥对苹果连作障碍的影响,如果要深入分析作用机理还需进一步做试验。

目前,在生产上,经常使用的解决再植障碍的方法,如选择抗性品种和砧木、农艺措施、化学防治等具有费用高、费工大、环境污染、潜在的健康风险等缺点^[4]。国内外很多研究均在考虑用生物防治的方法来控制再植病害防治,效果较好^[5-6]。目前已发现的拮抗细菌中,尤其在植物土传病原真菌和生物防治工作中,经常报道的有芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)、假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)、放射土壤杆菌(*Agrobacterium radiobacter*)等^[27]。在温室盆栽试验发现,根部接种 *Agrobacterium radiobacter* 可减少苹果幼树的死亡,促进幼树生长^[28]。“明月”牌海藻生物有机肥在海藻的基

础上添加了拮抗菌,既有海洋生物所特有的活性物质,又有拮抗连作障碍的功能菌株,已有多年销售历史,广泛应用于大田作物、果树、大棚蔬菜等作物,市场反馈效果很不错。生物防治因其诸多优点成为未来解决连作障碍的重要发展方向,而且拮抗菌的工厂化发酵生产更容易规模化、管理系统化,是生产商品生物有机肥的重要保障。

参考文献

- [1] 赵其年. 苹果重茬再植障碍影响程度调查[J]. 山西果树, 2005, 6: 40.
- [2] 马彦, 魏学信, 于良组. 苹果树再植障碍试验[J]. 北方果树, 1996(1): 7-8.
- [3] 谢洪刚, 李坤. 果树连作障碍机理及控制途径[J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2008, 10(4): 6-8.
- [4] 薛晓敏, 王金政, 张安宁, 等. 果树再植障碍的研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(1): 147-151.
- [5] Mukhopadhyay A N. Biological control of soil-borne plant pathogens by *Trichoderma* spp. [J]. Indian J Mycol Plant Pathol, 1987 (17): 1-5.
- [6] Huang H C. Ecological basis of biological control of soilborne plant pathogens[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1992(14): 86-91.
- [7] 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: 63-83.
- [8] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 34-35.
- [9] 秦青, 张文举, 张涛. 海藻有机肥的研究进展[J]. 中国农学通报, 2001, 17(1): 46-47.
- [10] 秦益民. 海藻酸[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2008: 174-175.
- [11] 周二峰, 宋秀红, 胡国强, 等. 天然有机海藻肥的功效及应用前景[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(9): 2671, 2775.
- [12] 吕汰, 虎东岳, 汪卯全. 海藻肥在蔬菜作物上的增产效果研究[J]. 甘肃农业科技, 2003(10): 38-40.
- [13] 于继洲, 秦国新, 杜方. 果树再植障碍机理研究进展[J]. 山西果树, 2004(2): 36-37.
- [14] 薛炳焯, 杨兴洪, 罗新书. 落叶果树连作障碍的研究进展[J]. 落叶果树, 1989(S1): 84-87.
- [15] 单俊伟, 许加超. 海藻生物肥的抗病试验[J]. 齐鲁渔业, 2004, 21(12): 33-34.
- [16] Wang C, Xu G Y, Ge C C, et al. Progress on the phenolic acid substances and plant soil sickness[J]. Northern Horticulture, 2009, 3: 134-137.
- [17] Wu F Z, Zhao F Y. Root exudates and cropping obstacle[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2003, 34(1): 114-118.
- [18] Baerson S R, Dayan F E, Rimando A M, et al. A functional genomics investigation of allelochemical biosynthesis in *Sorghum bicolor* root hairs[J]. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(6): 3231-3247.
- [19] Zhang J H, Mao Z Q, Wang L Q, et al. Bioassay and identification of root exudates of three fruit tree species[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2007, 49(3): 257-261.

- [20] Politycka B, Adamska D. Release of phenolic compounds from apple residues decomposing in soil and the influence of temperature on their degradation[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2003,12(1):95-98.
- [21] Wu H, Haig T, Pratley J, et al. Allelochemicals in wheat(*Triticum aestivum* L.):variation of phenolic acids in shoot tissues[J]. Journal of Chemical Ecology,2001,27(1):125-135.
- [22] Ogwen J, Yu J. Autotoxic potential in soil sickness: A re-examination[J]. Allelopathy Journal,2006,18(1):93-102.
- [23] ilani G, Mahmood S, Chaudhry A, et al. Allelochemicals: sources, toxicity and microbial transformation in soil:a review[J]. Annals of Microbiology,2008,58(3):351-357.
- [24] Effreyd J, John T. Allelochemicals of *Polygonella myriophylla*: chemistry and degradation[J]. Journal of Chemical Ecology,2004,30(5):1067-1082.
- [25] He G X. Fir the planted forest land soil phenolics degradation of internal and external cause [J]. Journal of Zhejiang Forestry College, 1995,12(4):434-439.
- [26] Inderjit. Soil microorganisms: an important determinant of allelopathic activity[J]. Plant and Soil,2005,27(4):227-236.
- [27] 蒋汉林,李光华,易图永.苹果再植病防治研究进展[J].安徽农学通报,2007,13(16):68-70.
- [28] Catska V, Hudska G. Use of *Agrobacterium radiobacter* for biological control apple replant disease[J]. Acta Horticulturae,1994, 36(3):129-134.

