

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2020.02.002

朱文娟, 王小国. 强还原土壤灭菌研究进展. 土壤, 2020, 52(2): 223–233.

强还原土壤灭菌研究进展^①

朱文娟^{1,2}, 王小国^{1*}

(1 中国科学院成都山地灾害与环境研究所, 成都 610041; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 随着经济和技术的快速发展, 以高投入高产出、高频种植等为特点的集约化种植已成为我国重要的农业生产模式。伴随集约化种植程度不断提高, 作物土传病害频发, 且易发生酸化、次生盐渍化、土壤板结等土地退化现象, 往往造成作物连作障碍。强还原土壤灭菌方法(reductive soil disinfestation, RSD)作为一种环境友好型方法, 兼具杀灭土传病原菌和改善土壤理化性质、易操作和处理时间短等特点, 已成功用于作物连作障碍的防治。本文根据不同作物类型及不同土传病原菌, 归纳总结了 RSD 处理过程所采取的有机物质类型、施用量、温度条件、淹水覆膜状况及灭菌效果。

关键词: 强还原土壤灭菌; 有机物质类型; 连作障碍

中图分类号: S154 **文献标志码:** A

Advances in Method of Reductive Soil Disinfestation

ZHU Wenjuan^{1,2}, WANG Xiaoguo^{1*}

(1 *Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China*; 2 *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

Abstract: With the rapid development of economy and technology, intensive cultivation characterized by high input and high-frequency planting have become important patterns of agricultural production in China. With farming cultivation increasing steadily in intensiveness, such as soil-borne pathogens, soil acidification, secondary salinization, soil consolidation and so on occur more frequently, these problems often cause seriously successive cropping obstacle. Reductive soil disinfestation (RSD) is an environment-friendly method, which has the characteristics of inhibiting soil-borne pathogens and improving soil physicochemical properties, convenient and easy to operator, and short processing time. It has been successfully applied to the successive cropping obstacle. Based on different crop types and soil-borne pathogens, this article summarizes the types of organic matter, application rates, temperature conditions, flooding, lamination and disinfestation effects of the RSD method.

Key words: Reductive soil disinfestation; Organic matter type; Successive cropping obstacle

同一种作物或近缘作物连作后, 即使采用正常的栽培管理措施也会发生产量降低、品质变劣、生育状况变差的现象, 这一现象即是连作障碍^[1]。许多大田经济作物、园艺作物(包括瓜果类蔬菜和观赏花卉)和中草药材等的种植都存在着不同程度的连作障碍现象^[2-4]。由于地理特点、气候条件及种植习惯等因素的影响, 我国相继出现了一批专业化的经济作物(药材)种植区, 如东北大豆种植区、山东花生种植区、海南甘蔗种植区、四川中药材种植区等。大田经济作物(药材)一般都采用大面积连年种植的形式, 随着市场需求的不断上升, 这些作物的栽培面积不断扩大,

由此造成更大面积的连作。连作常使作物(药材)生长不良, 病虫害发生严重, 从而造成作物产量下降、品种质量变劣、经济效益降低^[5-6]。为防治连作障碍, 常采取的措施有物理措施(如轮作、间作套种、灌溉洗盐、高温闷棚等)、生物措施(如施用微生物有机肥、施用拮抗剂和选用抗性品种等)以及化学措施(如施用石灰增加 pH、土壤化学熏蒸等)^[7]。这些方法和技术对连作障碍具有一定防治和减缓效果, 但这些技术均有其局限性。例如, 施用生物有机肥或增施有机肥, 一般情况下只起缓解连作障碍的作用; 施用石灰可调节土壤酸度, 却不一定能减少土壤中土传病原菌数

①基金项目: 中国科学院“西部青年学者”A类项目资助。

* 通讯作者(xgwang@imde.ac.cn)

作者简介: 朱文娟(1993—), 女, 贵州遵义人, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤与环境。E-mail: zhuwenjuan@imde.ac.cn

量;施用甲基溴类化学熏蒸剂是控制土传病菌较有效的方法,但由于对环境产生负面影响已被禁止使用^[8-9]。

因此,需要解决的连作障碍技术存在的问题是:可用的、防治结合的物化技术和保护农地废弃物再利用技术较少,全面修复土壤物理、化学和生物性质的方法不多^[6]。最近国外刚刚兴起的强还原土壤灭菌(reductive soil disinfestation,简称 RSD)方法是运用生态学方法,在土壤-作物-微生物的关系中创造有利于作物生长、不利于病原微生物生长的土壤环境条件,以达到降低土传疾病的发生率、提高作物产量的目的^[10-12]。RSD 处理具体步骤包括:①添加有机物质。采用粉碎机直接或相对高温(40~60℃)烘干后粉碎过筛,将粉末状有机物料均匀翻耕入土,或采用灌溉设备将乙醇等液体有机物质施用到土壤;②淹水覆膜;③当土壤不再产生恶臭味时处理结束,撤膜排水晾干土壤^[10]。该技术的基本原理是:在短时间内创造强烈的土壤还原环境,利用反硝化反应以消除积累在土壤中的硝酸盐,生成硫化氢等还原性硫化物而脱除硫酸盐,从而达到脱盐的目的;利用还原过程中产生的 OH⁻以中和土壤酸性;短时间内强烈的氧化还原条件转变及还原环境中生成的 H₂S 等物质可能抑制甚至杀灭土传病原微生物;有机物料转化生成的土壤有机质将改变土壤的物理性质,从而彻底修复退化土壤,为作物创造良好的生长环境^[8-10]。

RSD 方法是近年来代替化学熏蒸灭菌的土壤消毒处理方法^[8-10]。该方法较其他土壤处理方法,其优点明显:①耗时短、效率高。传统土壤淹水处理需 3~4 个月,该方法仅需 2~4 周,即可有效杀灭 90% 以上的病原菌;②所需温度较低。日晒消毒往往需要 40~55℃ 的持续高温才能在较短时间内有效杀灭病原菌,仅局限在日晒强烈的热带地区和亚热带沿海地区,相比之下,RSD 方法只需 25℃ 以上温度;③物料选择范围宽。作物秸秆、麦麸、乙醇、覆盖作物、绿肥和粪肥等均可作为有机物料翻入土壤;④环保,基本无污染。化学消毒常采用溴甲烷等作为土壤熏蒸剂,严重破坏环境,引起温室效应等,强还原土壤灭菌方法充分利用农副产品废弃物,既可实现土壤消毒灭菌,又能部分解决农田废弃物污染问题^[8-10]。

1 强还原土壤灭菌(RSD)的应用

RSD 处理中添加的有机物料(碳源)可分为干物质有机物料和易降解液体化合物^[11]。干物质有机物料包括作物秸秆、作物残渣等农业废弃物,易降解液体化合物主要包括乙醇、乙酸和葡萄糖等。

1.1 干物质有机物料作为碳源

1.1.1 干物质有机物料种类 易降解的有机物料作为碳源添加,已被证明具有良好的灭菌效果,主要包括苜蓿、麦麸、米糠、玉米秸秆、甘蔗渣、稻壳、芦苇等农业废弃物,鸡粪、猪粪等家禽粪肥,西兰花、芥菜、芝麻菜等新鲜覆盖作物^[10,13-14]。这些有机物料都易大量获取,RSD 处理将其作为碳源,可同时起到降低处理成本、利用有机废弃物、保护生态环境的作用^[10]。

大部分有机物料都取得了较好灭菌的效果,但是呈现出差异性,这与有机物料本身理化性质有很大关系。有机物料富含丰富有机碳,可分为易降解和难降解(如纤维素和木质素)两种^[11]。RSD 处理前期厚壁菌门(Firmicutes)利用有机质大量繁殖并成为优势种群,其中优势属中碳源分解者瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)和产酸菌(如 *Clostridia* 和 *Coprococcus*)居多。有学者推测,RSD 处理前期碳源分解者能够快速分解物料中的易降解有机碳并协同产酸菌产生有机酸,后期有机质中剩余部分为难降解有机碳源,微生物分解缓慢,从而产酸能力也较弱^[11-12]。这些有机物料降解过程产生的有机酸正是灭菌最为重要的物质,但由于物料易氧化有机碳含量不同,产生有机酸的能力高低不一。此外,RSD 处理过程产生的有益菌等(如芽孢杆菌 *Bacillus*)利用易降解有机碳源大量繁殖,这些有益微生物的拮抗作用、竞争作用及寄生作用能较好地抑制病原菌^[10-11]。在易氧化有机碳大致相同的情况下,总氮越高,杀菌效果越好。这可能与氨化作用有关,微生物分解有机氮过程中产生的有毒物质氨具有杀菌作用,总氮越高氨化作用强度越大,产生的氨也越多,从而杀菌效果也越好^[11]。

目前已采用的农业有机物料碳氮比(C/N)比值范围在 6.99~159.23,例如苜蓿、麦麸、米糠、菜粕、玉米秸秆等为低 C/N 有机物料,甘蔗渣和甘蔗叶等为高 C/N 有机物料。但是,低 C/N 的有机物料具有更高的灭菌速率,能促使土壤发生较高的还原条件,导致土壤中含氮化合物(如氨和亚硝酸)的生成量增加,从而更好抑制真菌病原体^[11,16]。在美国田纳西州 RSD 实施方法中,建议施用 C/N 为 10~35 的有机物料,他们认为 RSD 处理采用的有机物料 C/N 过低会导致氮的损失,而过高的 C/N 则使处理后的土壤出现缺氮情况,需要施用更多的氮肥加以补充^[10]。也有研究表明,有机物料的 C/N 在 10~40 的范围内可有效地减少病菌菌核的萌发并增强有益菌核体寄生菌的定殖^[17]。总的来说,添加高易氧化有机碳和低 C/N

有机物料所参与的 RSD 处理灭菌效果更好^[16]。

1.1.2 干物质有机物料作为碳源的应用 1) 枯萎病防治。尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)是一种广泛分布的土传病原真菌,可引起瓜类、茄科、香蕉、棉、豆科及花卉等 100 多种植物枯萎病的发生^[18]。例如,何欣等^[19]报道指出每克土含 10^3 CFU 的尖孢镰刀菌就是香蕉枯萎病的致病浓度。RSD 处理对尖孢镰刀菌具有良好杀灭效果,已经成功防治多种作物、水果枯萎病,例如香蕉、洋桔梗、黄瓜、西瓜、番茄、草莓、菠菜等。其中采用的碳源分别有苜蓿粉、米糠、麦麸、芦苇、甘蔗叶、甘蔗渣、芥菜、萝卜残茬、稻草、新鲜猪粪等(表 1)。RSD 处理的土壤处理温度为 19.7 ~ 40℃,处理时间一般为 9 ~ 27 d,土壤温度越

高,RSD 处理时间越短,而处理温度较低时,需要较长的处理时间,具体处理时间可根据有机物料的施用量、温度、土传病原菌数量及可供处理的有效时间做调整。RSD 处理的有机物料施用量一般为 0.31 ~ 10.2 kg/m²(表 1)。一般而言,有机物料施用量越大,灭菌效果越显著,但黄新琦等^[12]以水稻秸秆处理香蕉尖孢镰刀菌高度侵染的土壤时,发现施用量为土壤质量的 0.6% 和 1.2% 时,杀菌效果并无显著差异。RSD 处理通过淹水和覆膜处理可将土壤与大气隔绝,快速建立强还原环境,而对于少部分持水能力差或不便淹水处理土壤,可选择覆膜,透明塑料膜有利于日晒和提高土壤温度,不透明膜对控制杂草有一定作用^[11,14]。

表 1 RSD 防治枯萎病所采用的干物质有机物料
Table 1 Dry organic matter used by RSD to prevent *Fusarium oxysporum* wilt

碳源	C/N	施用量	温度 (°C)	处理时间	淹水覆膜情况	作物	试验条件	病原菌情况	地理位置	参考文献
米糠、麦麸、甘蔗渣、芦苇	88.45、33.76、94.93、62.86	2%(m/m)	35	14 d	FC	洋桔梗	盆栽	自然	云南	[11]
新鲜猪粪	129.6	1.6%(m/m)	25 ~ 40	15 d	FC	香蕉	盆栽	自然	海南	[12]
水稻秸秆	46	0.6%、1.2%(m/m)	25 ~ 40	15 d	FC	香蕉	盆栽	自然	海南	[12]
苜蓿粉、香蕉叶、甘蔗叶、麦麸、甘蔗渣、芦苇	29.6、29.19、60.29、33.76、94.93、62.86	2%(m/m)	35	16 d	F	香蕉	盆栽	自然	广西	[16]
苜蓿粉+0.25%冰乙酸	23.19	1%(m/m)	35	21 d	FC	西瓜	盆栽	自然	安徽	[20]
麦麸	NR	0.00 ~ 0.016 g/g 土	28	9 ~ 14 d	FC	番茄	温室	接种	日本	[21]
麦麸	NR	0.008 ~ 0.016 g/g 土	28	9 ~ 14 d	FC	番茄	温室	接种	日本	[21]
麦麸	NR	1 kg/m ²	30 ~ 33	15d	FC	番茄	田间室内	接种	日本	[22]
麦麸	NR	1 kg/m ²	>30	3 w	FC	康乃馨	温室	自然	阿根廷	[23]
萝卜	NR	6 kg/m ²	NR	18 d	FC	NR	室内	接种	日本	[24]
麦麸	NR	1 kg/m ²	24 ~ 34	3 w	FC	菠菜	温室	自然	日本	[25-27]
芥菜+燕麦	NR	3.29 ~ 10.4 kg/m ²	18.1 ~ 35.5	3 w	FC	菠菜	田间	自然	日本	[27]
芥菜+萝卜根+麦麸	NR	2 ~ 10 kg/m ²	19.7 ~ 39.4	3 w	FC	菠菜	温室	接种	日本	[28]
新鲜覆盖作物	NR	0.31 ~ 0.58 kg/m ²	20 ~ 30	3 w	C	NR	温室	接种	美国	[29]
苜蓿粉	NR	0.75 kg/m ²	NR	20 d	FC	西瓜	田间	自然	海南	[30]
稻草+猪粪	NR	0.3%、0.6%稻草+0.4%、0.7%猪粪(m/m)	30	15 d	FC	NR	盆栽	自然	安徽	[31]

注:表中“d”表示处理天数;“w”表示处理周数;“m/m”表示盆栽试验中有机物料质量与土壤质量比;“NR”表示未说明;“F”表示仅淹水处理;“C”表示仅覆膜处理;“FC”表示淹水覆膜或淹水密封处理;“+”表示联合施用多种碳源进行处理;下同。

麦麸作为 RSD 处理的碳源对尖孢镰刀菌有较好灭菌效果,已被国内外科技工作者广泛采用^[16,21-22]。

Momma 等^[21-22]研究报道,在日本温室控制试验下,以麦麸为碳源的 RSD 处理能致使菠菜枯萎病发病率

降低至 21.1%，有效防治由尖孢镰刀菌引起的菠菜枯萎病。Momma 等^[22]研究还发现，在同样温室控制试验下，以麦麸为碳源的 RSD 处理可降低接种至土壤中的番茄枯萎病菌厚垣孢子的活力，然而在田间条件下施用 1 kg/m² 麦麸进行 RSD 处理，处理 15 d 时间后却没有获得与在温室控制试验下接种番茄枯萎病菌相似的灭菌效果，并认为这可能是与所添加碳源的来源不同或其他添加物质有关。相反，阿根廷科学家 Yossen 等^[23]研究发现，在田间条件下对自然感染尖孢镰刀菌的康乃馨温室，以上述相似土壤处理温度(30℃以上)且相同施用量(1 kg/m²)的麦麸进行 RSD 处理，尖孢镰刀菌显著减少，康乃馨枯萎病得到有效防治。国内，蔡祖聪等^[10]、刘亮亮等^[16]研究 RSD 处理所使用有机物料与其杀菌效果的相互关系发现，低 C/N 麦麸中易氧化有机碳含量高，易降解且刺激有机酸生产者产生更多的有毒有机酸，加之 C/N 较低可能会诱发较高的灭菌速率，从而在 RSD 过程呈现较好的灭菌效果，同样包括苜蓿、芦苇、水稻秸秆、玉米秸秆、香蕉叶、甘蔗叶和甘蔗渣等有机物料。除单独施用有机物料外，Zhou 等^[20]在发生严重枯萎病的西瓜地，联合施用苜蓿粉和 0.25% 冰乙酸，结果表明新栽幼苗死亡率降低至 0，土壤中尖孢镰刀菌、真菌、放线菌显著降低，显著控制西瓜枯萎病发生和提高西瓜产量，值得推广应用。

能够产生杀菌物质的十字花科植物也是很好的有机物料^[10]。萝卜残茬和芥菜均属于十字花科植物，当添加进土壤后均会释放对病菌具有较好杀灭效果的挥发性有机物(含有异硫氰酸盐)，均能显著杀灭尖孢镰刀菌^[10,25-28]。尤其以萝卜残茬为碳源进行 RSD 处理，处理后土壤中细菌群落以梭菌属(*Clostridia*)和杆菌属(*Bacillus*)微生物为主，大大增加了土壤中的梭状芽孢杆菌、芽孢杆菌等有益微生物，这些有益微生物菌群能拮抗和抑制土壤中病原菌，有效防治枯萎病发生^[25-28]。

新鲜覆盖作物也可用作 RSD 处理的碳源杀灭尖孢镰刀菌，如豇豆、菽麻、珍珠粟(也称为御谷)和高粱-苏丹草(高粱×苏丹草杂交)等^[29]。Bulter 等^[29]以新鲜覆盖作物为 RSD 处理的碳源发现，以豇豆与珍珠粟组合、高粱-苏丹草为碳源均可控制接种到温室土壤中的番茄枯萎病菌和齐整小核菌，其中尖孢镰刀菌的死亡率相似，均减少了 97% 以上，但是对接种的齐整小核菌病原体的灭菌效果不一致。虽然新鲜覆盖作物是一种潜在且有效的碳源物质，但是仍需要进一步验证其灭菌效果及其一致性^[29]。

同时，采用 RSD 处理防治枯萎病后，土壤中 SO₄²⁻ 和 NO₃⁻ 含量均降低，解决了硝酸盐和硫酸盐累积造成的次生盐渍化问题，也能改善土壤板结和减少土壤酸化发生^[30-32]。低 C/N 有机物料具有较好灭菌效果，但是在蔬菜大棚由于大量施用氮肥，常积累大量硝态氮，相反施用 C/N 高的秸秆作为有机物料可以促进硝态氮的生物同化，减少氮素损失^[10]。

2)立枯病防治。土传立枯病又称“死苗”，主要由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起，寄主范围广，除茄科、瓜类蔬菜外，一些豆科、十字花科等蔬菜也能被害，其是各种作物中产生猝倒病的主要原因^[33]。这种真菌即使在不利的环境条件下也会以菌核-休眠形式长期存活^[34]。

目前，苜蓿、米糠、芝麻菜、芥菜、西兰花等作为 RSD 处理的碳源，已成功用于黄瓜、番茄和红甜椒等立枯病的防治^[35-37]。RSD 处理的温度为 18 ~ 30℃，处理时间一般为 15 ~ 21 d(表 2)。盆栽试验 RSD 处理施用 2% 土壤质量的有机物料取得较好灭菌效果。在美国田纳西州，RSD 实施方案最初建议的有机物料施用量为 0.4% 土壤质量的有机碳，但这是以致死各种土传病原菌为目标的施用量，如果需要致死的土传病原菌对 RSD 处理较为敏感，则有机物料的施用量可适当减少^[10]。

对感染立枯丝核菌的黄瓜连作地进行盆栽 RSD 处理，施用土壤质量 2% 的苜蓿粉，土壤灌溉至水分饱和并覆盖塑料膜，土壤控温在 30℃左右处理 19 d，结果表明立枯丝核菌种群数量显著降低，且土壤微生物的群落多样性和活性显著增加^[36]。微生物拮抗剂也是防治立枯病的措施之一，但由于拮抗微生物与土壤微生物存在竞争关系不能在土壤中稳定定殖，灭菌效果不佳^[36]。Huang 等^[37]通过微生物拮抗剂与 RSD 方法联合应用，即在 RSD 处理结束后进一步接种微生物拮抗剂(短小芽孢杆菌和哈茨木霉)，结果发现由于前期 RSD 处理减少了立枯丝核菌数量，拮抗微生物能通过 RSD 创造的有利空间和所提供的营养，更稳定定殖于土壤。相对单独施用拮抗剂或 RSD 处理，二者配合施用不仅增加土壤微生物数量和活性，也进一步改变土壤微生物的结构，更稳定控制立枯病发生^[35-37]。

McCarty 等^[35]研究发现，在美国田纳西州受立枯丝核菌侵染的番茄和甜椒土壤上，分别以黑麦、芥菜+芝麻菜、干糖渣为碳源进行 RSD 处理，其中黑麦、芥菜+芝麻菜处理土壤中立枯丝核菌种群数量最低，并且与生物熏蒸的灭菌效果相当。这可能是由于黑麦

为低 C/N 有机物料, 强还原环境下易于被土壤微生物降解利用, 从而产生大量有毒有机酸杀灭病原菌^[10,35]; 而芥菜和芝麻菜属十字花科植物, 添加到土壤会释放挥发性杀菌物质^[10]。然而, 田间条件下, RSD 处理后番茄和甜椒的产量与未处理土壤没有显著差异^[35]。McCarty 等^[35]认为这与处理前土壤感染立枯丝核菌数量相对少, 作物发生立枯病程度较轻有关,

并且 RSD 处理中碳源施用量少, 处理前后土壤肥力相当, 因此造成作物产量没有显著差异。虽然 RSD 处理过程中施用大剂量有机物料能更好地抑制病菌^[10], 但是 Utsala 等^[38]研究指出, 仅用禾本科(青草)和十字花科植物对感染立枯丝核菌土壤进行 RSD 处理时, 施用 5 ~ 6 kg/m² 的有机物料却表现出对病原菌较小的抑制作用, 具体原因需进一步研究。

表 2 RSD 防治立枯病所采用的干物质有机物料
Table 2 Dry organic matter used by RSD to prevent *Rhizoctonia solani*

碳源	C/N	施用量	温度 (°C)	处理时间	淹水覆膜情况	作物	试验条件	病原菌来源	地理位置	参考文献
西兰花	NR	3.8 ~ 4 kg/m ²	NR	15 d	C	NR	田间	接种	荷兰	[8]
黑麦	18.5	1.34 kg/m ²	>21	3 w	C	番茄和甜椒	田间	自然	美国	[35]
芥菜、新鲜覆盖作物、干糖渣	9.3	C, 0.86 ~ 1.99 mg/g	>21	3 w	C	番茄和甜椒	田间	自然	美国	[35]
苜蓿粉	6.99	2%(m/m)	30	15 d	F	黄瓜	盆栽	自然	南京	[36]

3) 黄萎病防治。大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)是引起黄萎病的致病菌, 大田作物包括棉花、茄子、番茄、烟草、甜瓜、西瓜、黄瓜等易受侵害^[39]。通过分别采用麦麸、黑麦草、西兰花和

米糠等作为 RSD 处理碳源, 均显著控制黄萎病的发生^[8,40-45]。RSD 处理温度为 15 ~ 26.6°C, 有机物料施用量为 1 ~ 10.2 kg/m², 处理时间一般为 3 ~ 13 周(表 3)。

表 3 RSD 防治黄萎病所采用的干物质有机物料
Table 3 Dry organic matter used by RSD to prevent *Verticillium wilt*

碳源	C/N	施用量 (kg/m ²)	温度 (°C)	处理时间	淹水覆膜情况	作物	试验条件	病原菌来源	地理位置	参考文献
西兰花	NR	3.8 ~ 4	NR	15 w	FC	NR	田间	接种	荷兰	[8]
麦麸	22.7	1	15 ~ 25	3 w	FC	草莓	盆栽	接种	美国	[41]
米糠	NR	2.02	16.6 ~ 21.1	3 w/6 w	FC	草莓	田间	自然	美国	[42]
	NR	1.08	21.1 ~ 26.6	4 w	FC	草莓	田间	自然	美国	[42]
麦麸	NR	2	NR	3 w	FC	草莓	田间	自然	美国	[42]
麦麸+糖蜜	NR	2	<20 ~ 23	3 w	FC	草莓	田间	自然	美国	[44]
青草	NR	4.2, 6.2, 10.2	NR	NR	C	芦笋	田间	接种	荷兰	[45]
黑麦草	13.9	4.0, 5.4	NR	10 ~ 13 w	C	挪威枫、梓树	田间	自然	荷兰	[46]

RSD 处理防治黄萎病所采取的有机物料中, 低 C/N 的米糠和麦麸均是优质的碳源。Daugovish 等^[40]报道, 以米糠为碳源进行 RSD 处理, 可将土壤接种的大丽轮枝菌病原体减少 94%。Shennan 等^[41-42]研究发现, 对发生黄萎病的草莓园土壤进行 RSD 处理, 在土壤温度为 16 ~ 21.1°C 条件下, 施用 2.02 kg/m² 米糠需处理 6 周; 而相同土壤温度条件下, 通过施用 2.48 kg/m² 麦麸进行 RSD 处理, 处理 3 周后即显著杀灭大丽轮枝菌, 控制草莓黄萎病的发生且提高了水果产量; 然而, 土壤处理温度升高至 21.1 ~ 26.6°C 时, 在土壤中仅施用 1.08 kg/m² 米糠, 处理 4 周就达到相同灭菌效果。Shennan 等^[42]及 Wen 等^[43]研究表明, 土壤温度高于 17°C, 施用 2 kg/m² 米糠作为碳源进行

RSD 处理, 草莓园土壤中自然侵染的大丽轮枝菌的数量可减少 85% ~ 100%, 并且 RSD 处理后的草莓产量与联合施用 1,3-二氯丙烯+氯化苦的土壤熏蒸灭菌效果相当。同样, Muramoto 等^[44]以米糠为碳源, 在 20 ~ 23°C 的土壤温度下, 以 2 kg/m² 米糠施用于自然感染大丽轮枝菌的草莓园土壤, 也取得了显著灭菌效果。Utsala 等^[38]对不同温度条件下 RSD 处理的时间和灭菌的效果进行 Meta 分析发现, 室内控制试验或田间试验条件下, 所有 RSD 处理在较高的土壤处理温度下更能发挥其有效性, 当土壤温度相对高时(>16°C), 处理时间可缩短至 3 周以下, 当温度为 16 ~ 30°C 时病原体抑制率达到 80% 以上; 但是较低温时, 40% 病原体未被抑制。然而, 在低温(<16°C)条件下, 当

改变某些条件时 RSD 可能有效,例如添加较高施用量的有机物质和进行较长时间的处理(10~25周),低温下的 RSD 处理可有效控制土壤中大丽轮枝菌^[38]。

新鲜西兰花和黑麦草也常作为 RSD 处理碳源,对大丽轮枝菌有较好灭菌效果。在荷兰的田间条件下, Blok 等^[45]在土壤 15 cm 土层深度接种大丽轮枝菌、立枯丝核菌和尖孢镰刀菌,通过施用 0.5 kg/m² 的西兰花,在 39℃ 土壤温度覆膜处理 15 周,结果表明 3 种病原体的接种物均失活,病原菌数量均显著降低,灭菌效果显著。同样在荷兰, Goud 等^[46]在感染大丽轮枝菌的挪威枫和美国红豆树土壤中施用 4 kg/m² 或 5.4 kg/m² 黑麦草覆膜处理 10~13 周,结果表明相对未处理土壤, RSD 处理直接减少接种到土壤中 85% 的大丽轮枝菌,且病原菌在 4 a 内没有再增加,黄萎病的危害程度降低,植株的死亡率减少。但是相比米糠和麦麸,新鲜西兰花和黑麦草作为 RSD 处理碳源,处理时间均偏长,但均对病原菌具有灭菌效果。

4) 根腐病和根结线虫防治。根腐病是一种真菌引起的病害,该病易造成根部腐烂,使其吸收水分和养分的功能逐渐减弱,最后全株死亡。引起根腐病的病原菌包括疫霉、腐霉、镰刀菌等^[47]。目前 RSD 已用于芦蒿、苹果、核桃、李树等根腐病的防治^[47-51]。已采用的有机物料包括玉米秸秆、米糠、鸭茅和芥菜等。RSD 处理时间一般为 2~7 周,处理温度一般为 18~35℃(表 4)。

Wen 等^[43]对芦蒿根腐病土壤进行盆栽 RSD 处理,在钵钵中施用土壤质量 0.2%~2% 的玉米秸秆粉(玉米地上部分在 40℃ 烘干磨成),结果表明, RSD 处理后土壤芦蒿根腐病得到显著抑制,土壤有机物料施用量越高,灭菌效果越好,尤其施用 2% 秸秆的土壤中细菌群落结构显著转变,土壤细菌多样性增加。并且,未完全降解的有机物料残留在土壤中,增加了土壤有机质含量^[47]。Messiha 等^[48]研究 RSD 处理对马铃薯根腐病的灭菌效果时发现,以青草叶为碳源对接种和自然侵染褐腐病菌的马铃薯土壤进行 RSD 处理,在使用青草叶的微区试验中病原体的数量减少了 92% 以上,并且在田间试验中,病原体种群仍然显著减少。

RSD 方法也用于疫霉和腐霉等根腐病致病菌频发的果园^[48-51]。在严重受终极腐霉侵染的核桃树土壤施用 15.7 t/hm² 米糠,覆膜处理 7 周,存活在 7.6~15.2 cm 土壤深度的终极腐霉菌数量均下降

至检测水平以下,并且还能降低寄主范围广和易导致植株干枯死亡的根癌农杆菌数量^[49]。在感染腐霉的李树土壤施用 2 kg/m² 米糠进行 RSD 处理,可将土壤中腐霉几乎消灭,显著促进李树的生长,树干横截面积平均增长率在 37%~264%^[50]。在发生根腐病的苹果幼苗土壤,以鸭茅和芥菜作为碳源进行 RSD 处理均显著降低苹果树腐霉根感染率,可有效防治苹果幼苗发生根腐病^[51]。

根结线虫(*Meloidogyne*),也是常见根部致病菌,由于在根部形成球形或圆锥形大小不等的白色根瘤或呈念珠状病菌,严重影响作物生长^[52]。其主要寄生在蔬菜、粮食作物、经济作物、果树、观赏花卉及杂草上^[53]。然而, RSD 处理对根结线虫的杀灭效果可达 100%^[10],已采用的有机物料包括黑麦草、麦麸、米糠、糖蜜和鸡粪堆肥等(表 4)。RSD 处理温度为 15~40℃,有机物料施用量为 0.46~4 kg/m²,处理时间一般为 2~13 周。Utsala 等^[38]研究不同温度条件下 RSD 处理对线虫的灭菌效果时发现, RSD 处理的土壤温度在 16~35℃ 条件下对线虫抑制作用最大,而在较高(>35℃)和较低(<16℃)温度下抑制作用不显著;同时 RSD 处理时间小于 2 周显著促进线虫的存活,而处理 4~6 周对线虫具有较高的抑制作用。

Katase 等^[54]以麦麸为 RSD 处理碳源,在根结线虫严重的草莓园土壤施用 2 kg/m²,土壤温度 35℃ 处理 24 d 显著控制了病害发生; Goud 等^[46]以黑麦草为碳源,在移动型短体线虫属和毛刺线虫属频发的挪威枫树和美国木豆树土壤上,施用 0.46 kg/m² 并进行覆膜处理 10~13 周, RSD 处理后可显著减少根结线虫数量,降低发病率,而且这种土壤病菌种群的减少也致使树木根部感染的病菌显著减少,但由于树种根系发达和侵染范围广,处理时间可能较长。此外, Lamers 等^[55]研究发现,以绿肥作为 RSD 处理的碳源,处理后根结线虫和马铃薯胞囊线虫显著减少; Bulter 等^[56-57]报道,以糖蜜、糖蜜和鸡粪堆肥为碳源对发生根结线虫的茄子地块进行 RSD 处理,第二季生长的茄子其根部和土壤中的根结线虫群落显著减少,但在同一研究中随着鸡粪堆肥的施用,土壤中非致病菌线虫数量增加。类似地, Roskopf 等^[58]研究指出,在发生根结线虫的草莓园以糖蜜和鸡粪堆肥为碳源进行 RSD 处理,非致病菌线虫增加且数量随时间变化较大。

表 4 RSD 防治根腐病或根接线虫所采用的干物质有机物料
Table 4 Dry organic matter used by RSD to prevent root rot or *Meloidogyne*

碳源	C/N	施用量	灭菌类型	温度 (°C)	处理时间	淹水覆盖膜情况	作物	试验条件	病原菌来源	地理位置	参考文献
米糠	NR	1.57 kg/m ²	根癌农杆菌、腐霉属	32	7 w	FC	核桃	田间	接种	美国	[45]
黑麦草	NR	0.46 kg/m ²	短柄线虫属	NR	10~13 w	C	挪威枫、美国木豆	田间	自然	荷兰	[45]
黑麦草	NR	0.46 kg/m ²	短柄线虫属	NR	10~13 w	C	挪威枫、美国木豆	田间	自然	荷兰	[45]
玉米秸秆	NR	0.2%~2%(m/m)	疫霉、腐霉和尖孢镰刀菌	25~35	25 d	F	芦蒿	田间	自然	南京	[47]
米糠	NR	2.02 kg/m ²	根瘤菌、腐霉属	32	7 w	FC	核桃	田间	接种	美国	[49]
麦麸	NR	2 kg/m ²	根结线虫	35	24 d	FC	草莓	室内	接种	日本	[54]
绿肥	NR	4 kg/m ²	根结线虫、马铃薯白线虫	夏季	6 w		NR	田间	NR	荷兰	[55]

5) 青枯病防治。青枯病病原菌为茄科劳尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*)^[59], 主要危害作物有番茄、茄子、辣椒、马铃薯等。目前, 以米糠、麦麸和茶籽麸为碳源的 RSD 处理, 已被证明对茄科劳尔氏菌有着显著杀灭效果, 有机物料施用量为 1 kg/m², 处理时间为 14~27 d(表 5)。

水稻-番茄轮作 5 a 以上土壤青枯病发病率达 45%, 对发病土壤施用量 1 kg/m² 米糠、1 kg/m² 麦麸和 1 kg/m² 茶籽麸, 灌溉至土壤饱和并室外曝晒 27 d, 结果表明 3 种有机物料作为碳源均显著减少土壤中

青枯菌数量, 且米糠、麦麸、茶籽麸处理青枯病发病率分别降低 42.65%、40.41% 和 29.41%^[60]。此外, RSD 处理后均能提高土壤 pH 和电导率, 有效防治土壤酸化, 也同时增加了土壤有机质、全氮、碱解氮和速效钾含量, 明显改善土壤养分条件^[60]。以上 3 种有机物料, 低 C/N 的麦麸作为 RSD 的碳源, 在提高土壤 pH、防控青枯病及提高产量方面表现较好的优势^[52]。此外, Momma 等^[61]研究发现, 以麦麸为碳源的 RSD 处理可降低由青枯雷尔氏菌引起的番茄青枯病的病害程度。

表 5 RSD 防治青枯病所采用的干物质有机物料
Table 5 Dry organic matters used by RSD to prevent bacterial wilt

碳源	C/N	施用量	温度 (°C)	处理时间	淹水覆盖膜情况	作物	试验条件	病原菌来源	地理位置	参考文献
茶籽麸、米糠、麦麸	49.59、81.89、43.71	1 kg/m ²	日光曝晒	27 d	FC	水稻、番茄	田间	自然	广州	[59]
麦麸	NR	0.01 g/g 土	28	2 w	FC	NR	室内	接种	日本	[61]

6) 疫病防治。植物疫病, 主要指由疫霉属 (*Phytophthora*) 真菌引起, 其表现为叶斑、冠腐、枝干溃疡和腐烂、幼苗猝倒、根茎腐等^[62]。对农业威胁较大的疫病主要有由致病疫霉 (*P. infestans*) 引起的马铃薯晚疫病、番茄晚疫病, 由辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsici* Leonian) 引起的辣椒疫病等^[15,63-64]。而 RSD 已经成功治理发生辣椒疫病土壤, 在防治植物疫病方面表现出较大潜力。

Serrano-Pérez 等^[65]研究 RSD 处理对辣椒疫霉菌的存活率和侵染情况发现, 以米糠、油菜籽粕、葡萄渣为 RSD 处理碳源, 对接种烟草疫霉的土壤进行田间试验和室内试验, 与对照相比, 均有效地降低了烟草疫霉的感染率和存活率, 田间条件下辣椒植株的烟草疫霉感染率均低于 50%, 而在室内试验中均低于 20%。王光飞等^[15]对发生辣椒疫病土壤地进行盆栽

RSD 处理, 以水稻秸秆和菜粕作为碳源, 分别施用土壤质量的 0.6% 和 2%, 然后土壤灌溉至饱和, 土壤控温 28°C 对土壤处理 20 d, 结果表明幼苗栽种 45 d 后, 对照、菜粕处理和水稻秸秆处理发病率分别为 16.7%、3.3%、0%^[15]。由于水稻秸秆和菜粕是生产上都易大量获取但性状差异较大的两种农业有机废弃物, 水稻秸秆是高碳含量有机物料, 腐解过程中产生的大量有机酸和酚酸等物质对病原菌生长具有抑制作用, 而菜粕含氮量较高, 腐解过程产生的氨气等含氮化合物对病原菌具有较强的杀灭效果^[15]。但就对辣椒疫霉菌的灭菌效果而言, 菜粕作为 RSD 处理的碳源不能彻底减少辣椒疫霉菌, 应用可能存在风险, 而水稻秸秆在杀灭病菌和真菌等方面表现突出, 是较为优选的碳源。

1.2 液体有机物质作为碳源

1.2.1 液体有机物质种类 干物质有机物料作为

表 6 RSD 防治疫病所采用的干物质有机物料
Table 6 Dry organic matter used by RSD to prevent epidemic disease

碳源	C/N	施用量	灭菌类型	温度 (°C)	处理 时间	淹水覆膜 情况	作物	地理 位置	试验 条件	病原菌 来源	参考 文献
菜粕	74.89	0.6%(m/m)	辣椒疫霉	28	20 d	F	辣椒	江苏	盆栽	自然	[15]
水稻秸秆	159.23	2%(m/m)									
米糠	21	2 kg/m ²	烟草疫霉	15~35	4 w	C	辣椒	西班牙	田间、室内	接种	[65]
油菜籽粕	11	4 kg/m ²									
葡萄渣	27	4 kg/m ²									

RSD 处理碳源, 已经被成功用于防治土传病原菌和土地退化引起的连作障碍^[10]。但由于固体有机物料不易下渗, 只能机械翻耕至浅层土层, 而寄主在深层土壤中的病菌往往不能杀灭^[9]。然而, 液体有机物质作为碳源可解决这个问题, 通过滴灌或喷洒更容易施用于土壤中。目前, 乙醇、生物

乙醇、冰乙酸、葡萄糖等易降解有机化合物已被用于 RSD(表 7)。

1.2.2 液体物质作为碳源的应用 采用液体有机物质作为 RSD 处理碳源添加剂, 对防治香蕉和番茄枯萎病、黄瓜立枯病、草莓黄萎病、苹果根结线虫等, 均取得了良好的灭菌效果(表 7)。

表 7 液体有机物质作为碳源应用情况
Table 7 Liquid organic matter used as C source

碳源	施用浓度	灭菌类型	土壤温度 (°C)	处理 时间	作物	试验 条件	病原菌 来源	地理 位置	参考 文献
乙醇	0.5%~2%	尖孢镰刀菌	30~33	2~15 d	番茄	温室	接种	日本	[9]
葡萄糖	2%	尖孢镰刀菌	35	14 d	洋桔梗	盆栽	自然	海南	[16]
乙酸	0.25%	尖孢镰刀菌	NR	21 d	西瓜	盆栽	自然	广州	[20]
乙醇	1%	立枯丝核菌	30	19 d	黄瓜	盆栽	自然	南京	[36]
乙醇	1%	大丽轮枝杆菌	21.1~26.6	4 w	草莓	盆栽	接种	美国	[43]
CPL、糖蜜	0.82~2.6 kg/m ²	辣椒疫霉、番茄枯萎病菌、大豆炭腐病	30~40	3 w	辣椒、茄子	田间	接种	美国	[56-57]
乙醇	1%	尖孢镰刀菌	NR	3 w	番茄	田间	接种	日本	[62]
乙醇	10%	腐霉属、穿刺根腐线虫、尖孢镰刀菌	NR	2 w	苹果	室内	接种	美国	[66]
生物乙醇	0.5%、1%	尖孢镰刀菌	30	21 d	番茄	室内、田间	接种	日本	[67]

乙醇作为 RSD 处理中常选用的液体碳源, 可显著提高 RSD 有效性, 且不管是室内还是田间条件进行 RSD 处理, 均对多种病原真菌具有杀灭效果^[22,38]。Hewavitharana 等^[66]研究发现, 在室内控制试验条件下, 通过施用浓度为 10% 乙醇覆膜处理 2 周, 苹果连作土腐霉属、穿刺根腐线虫均被抑制; Momma 等^[22]研究报道, 同样在室内试验条件下, 以麦麸为 RSD 处理碳源, 最少需处理 9 d 才能致使番茄枯萎病菌(尖孢镰刀菌)的厚垣孢子死亡, 而通过施用不同浓度乙醇, 可显著缩短处理时间, 例如 2% 的乙醇需处理 3 d, 1% 的乙醇需处理 6 d, 5% 的乙醇需处理 9 d

即可使病原体达到不可检测水平^[9]。而在田间试验条件下, 以 1% 乙醇溶液对接种和自然侵染的番茄枯萎病菌(尖孢镰刀菌)土壤进行 RSD 处理, 结果表明病原菌数量均显著降低^[9]。Goud 等^[46]报道在感染大丽轮枝菌的草莓土壤上, 处理温度 21.1~26.6 °C 条件下, 以 1% 乙醇且 100 ml/m² 施用量灌溉田块, 处理 4 周后病原菌数量显著减少。

高浓度乙醇虽然灭菌效果显著、处理时间短, 但是浓度略偏高往往对土壤产生不利影响。根据目前已有的试验研究结果, 可能增加土壤处理温度可降低乙醇施用浓度。例如, 在土壤控温 30°C 条件下, 对发

生立枯病黄瓜土壤施用 1% 乙醇处理 19 d, 待土壤排水落干后种植黄瓜幼苗, 幼苗发芽率高达 92.6%^[36]; 相同土壤温度下, 对番茄枯萎病土壤施用浓度为 0.5% ~ 1% 乙醇或 1% 生物乙醇, 土壤中尖孢镰刀菌均减少, 灭菌效果显著^[67]。用乙醇作为 RSD 处理的有机物质时, Momma 等^[9-10]建议用 1% 浓度的乙醇作为标准施用量, 但具体施用量以土壤病原菌侵染程度、处理温度等综合考虑。

废糖蜜作为制糖厂的一种副产品, 也常用作 RSD 处理的液体碳源, 且已在日本和美国广泛使用^[56-70]。Butler 等^[56-57]研究发现, 在接种根结线虫和辣椒疫霉的茄子和甜椒土壤上, 以糖蜜为碳源进行 RSD 处理, 不仅将寄主在土壤中病菌显著杀灭, 也增加了土壤无机氮含量, 提高土壤养分条件。然而, Zavatta 等^[68]报道指出, 在美国加利福尼亚草莓园单独使用糖蜜为碳源进行 RSD 处理不如以米糠为碳源有效, 并且不诱导土壤微生物群落的转变, 而用米糠进行 RSD 处理后观察到明显不同的微生物群落变化。糖蜜也常与鸡粪堆肥组合作为 RSD 处理碳源进行应用, 例如在美国佛罗里达州, 使用鸡粪堆肥和糖蜜组合为 RSD 处理碳源, 已成功防治辣椒疫霉、番茄枯萎病菌、大豆炭腐病、草莓炭疽病等^[58,69-70]。也有研究表明, 以糖蜜为碳源且同夏季日晒相结合进行 RSD 处理, 对埋藏在土壤中的尖孢镰刀菌和腐霉接种物的灭菌效果显著, 且与甲基溴熏蒸灭菌效果相当^[68]。

除常采用的乙醇和废糖蜜外, 低浓度液体乙酸、葡萄糖作为碳源也具有良好杀菌效果。例如, 对西瓜枯萎病土壤, 施用浓度为 0.25% 的冰乙酸, 并进行覆膜处理 21 d, 结果表明 RSD 处理均显著减少土壤中尖孢镰刀菌数量^[20]; 并且待 RSD 处理结束, 土壤排水晾干后种植西瓜幼苗, 乙酸处理死苗率为 0, 显著低于对照土壤 43.3% 死苗率^[20]。此外, 对洋桔梗枯萎病施用土壤质量 2% 的葡萄糖, 土壤控温 35℃ 覆膜处理 14 d, 土壤中尖孢镰刀菌灭菌率为 85.87%^[11]。但是目前乙酸及葡萄糖较少作为 RSD 处理碳源, 仍需进一步深入研究。

液体物质作为碳源具有缩短灭菌时间、增加灭菌深度等优势, 但是添加干物质有机物料可能更能改善土壤养分条件。液体物质作为碳源, 应用成本高是目前最关心的问题^[58]。所以, 为了使这种有效的灭菌方法广泛应用, 需要一个稳定的低成本乙醇供应系统, 或者利用生物乙醇。生物乙醇作为一种可再生能源, 可以通过甘蔗、玉米、大米、小麦和高粱等农业原料生产制成, 值得推广应用^[67]。

2 结语

RSD 法是具有广谱性、环境友好型的方法, RSD 重建的微生物种群和群落使土壤比以往更具有抑制病害的能力, 并且具有提高土壤 pH、改善土壤养分循环和土壤结构等优点, 可有效治理多种土传病原菌病原体侵染和土壤理化性质退化造成的连作障碍。

筛选优质碳源是 RSD 法成功的关键。根据目前所采用的有机物质类型及其呈现的灭菌效果和土壤修复效果, 麦麸、苜蓿、米糠、玉米秸秆和水稻秸秆可能是低成本优选有机物料, 在高投入商业化种植地乙醇或生物乙醇可能是优选液体有机物质。尤其在我国, 秸秆资源丰富且易于获取, 将秸秆作为 RSD 处理的碳源, 变废为宝, 不仅减轻秸秆焚烧带来的大气污染, 也提高农业废弃物的资源利用率, 在国内推广具有重要意义。

本文介绍的碳源大部分取得了显著灭菌效果, 但是大部分处于室内试验研究阶段, 在实际田间应用中, RSD 往往受土壤类型、病原菌类型和侵染程度等因素的影响, 仍需要进一步开展研究。

参考文献:

- [1] 驹田旦. 持续性农业和土壤病害管理[J]. 系统农业, 1994, 10(2): 18-22.
- [2] Ajwa H A, Dell C J, Rice C W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1999, 31: 769-77.
- [3] 薛超, 黄启为, 凌宁, 等. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通量研究方法[J]. 土壤学报, 2011, 48(3): 612-618.
- [4] 陈立杰, 朱艳, 刘彬, 等. 连作和轮作对大豆胞囊线虫群体数量及土壤线虫群落结构的影响[J]. 植物保护学报, 2007, 34(4): 347-352.
- [5] 侯慧, 董坤, 杨智仙, 等. 连作障碍发生机理研究进展[J]. 土壤, 2016, 48(6): 1068-1076.
- [6] Zhu T B, Dang Q, Zhang J B, et al. Reductive soil disinfestation (RSD) alters gross N transformation rates and reduces NO and N₂O emissions in degraded vegetable soils[J]. Plant and Soil, 2014, 382: 269-280.
- [7] 郭肖, 孔德章, 黄本婷, 等. 农作物连作障碍产生机理与调控技术研究[J]. 作物研究, 2016, 30(2): 215-220.
- [8] Blok W J, Lamers J G, Termorshuizen A J, et al. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping[J]. Phytopathol, 2000, 90: 253-259.
- [9] Momma N, Momma M, et al. Biological soil disinfestation using ethanol: effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* and soil microorganisms[J]. Plant Pathology, 2010, 76: 336-344.

- [10] 蔡祖聪, 张金波, 黄新琦, 等. 强还原土壤灭菌防控作物土传病的应用研究[J]. 土壤学报, 2015, 52(3): 471–475.
- [11] 刘亮亮, 崔慧灵, 孔继婕, 等. 强还原处理所使用有机物料与其杀菌效果的相互关系[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 73–81.
- [12] 黄新琦, 温腾, 孟磊, 等. 土壤快速强烈还原对于尖孢镰刀菌的抑制作用[J]. 生态学报, 2014, 34(16): 4526–4534.
- [13] Momma N, Kobara Y, Uematsu S, et al. Development of biological soil disinfestations in Japan[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2013, 97(9): 3801–3809.
- [14] Strauss S L, Kluepfe D A, Anaerobic soil disinfestation: A chemical-independent approach to pre-plant control of plant pathogens[J]. Integrative Agriculture, 2015, 14(11): 2309–2318.
- [15] 王光飞, 马艳, 安霞, 等. 不同有机物料强还原处理对土壤性状影响与防控辣椒疫病效果[J]. 中国土壤与肥料, 2016(5): 124–129.
- [16] Liu L L, Kong J J, Cui H L, et al. Relationships of decomposability and C/N ratio in different types of organic matter with suppression of *Fusarium oxysporum* and microbial communities during reductive soil disinfestation[J]. Biological Control, 2016, 101: 103–113.
- [17] Shrestha, Utsala, Dee, et al. Anaerobic soil disinfestation reduces germination and affects colonization of *Sclerotium rolfsii* Sclerotia[J]. Phytopathology, 2018, 108(3): 342–351.
- [18] 朱育菁, 车建美, 肖荣凤, 等. 尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.)的生长特性[J]. 中国农学通报, 2007, 23(8): 373–376.
- [19] 何欣, 黄启为, 杨兴明, 等. 香蕉枯萎病致病菌筛选及致病菌浓度对香蕉枯萎病的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(18): 3816–3809.
- [20] Zhou K S. Remediation of watermelon continuous cropping soil anaerobic soil disinfestation[J]. Acta Agriculture Zhejiangensis, 2017, 29(7): 1179–1188.
- [21] Momma N, Usami T, Amemiya Y, et al. Factors involved in the suppression of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by soil reduction[J]. Soil Microorganisms, 2005, 59: 27–33.
- [22] Momma N, Momma M, Kobara Y, et al. Biological soil disinfestation using ethanol: EFFECT on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and soil microorganisms[J]. Journal of General Plant Pathology, 2010, 76: 336–344.
- [23] Yossen V, Zumelzu G, Gasoni L, et al. Effect of soil reductive sterilisation on *Fusarium* wilt in greenhouse carnation in Córdoba, Argentina[J]. Australian Plant Pathology, 2008, 37: 520–522.
- [24] Mowlick S, Hirota K, Takehara T, et al. Development of anaerobic bacterial community consisted of diverse clostridial species during biological soil disinfestation amended with plant biomass[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2012, 58: 273–287.
- [25] Mowlick S. Changes and recovery of soil bacterial communities influenced by biological soil disinfestation as compared with chloropicrin-treatment[J]. Amb Express, 2013, 3(1): 46.
- [26] Mowlick S, Takehara T, Kaku N, et al. Proliferation of diversified clostridial species during biological soil disinfestation incorporated with plant biomass under various conditions[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2013, 97(18): 8365–8379.
- [27] Mowlick S, Yasukawa H, Inoue T, et al. Suppression of spinach wilt disease by biological soil disinfestation incorporated with *Brassica juncea* plants in association with changes in soil bacterial communities[J]. Crop Protection, 2013, 54: 185–193.
- [28] Mowlick S, Inoue T, Takehara T, et al. Usefulness of Japanese-radish residue in biological soil disinfestation to suppress spinach wilt disease accompanying with proliferation of soil bacteria in the Firmicutes[J]. Crop Protection, 2014, 61: 64–73.
- [29] Butler D M, Roskopf E N, Kokalis-Burelle N, et al. Exploring warm-season cover crops as carbon sources for anaerobic soil disinfestation (ASD). Plant and Soil, 2012, 355: 149–165.
- [30] 柯用春, 王爽, 任红, 等. 强化还原处理对海南西瓜连作障碍土壤性质的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(4): 880–884.
- [31] 孟天竹, 朱同彬, 等. 强还原处理中 pH 对硫酸根去除效果及产物的影响[J]. 土壤, 2016, 48(1): 117–122.
- [32] 周开胜. 厌氧还原土壤灭菌对设施蔬菜地连作障碍土壤性质的影响[J]. 土壤通报, 2015, 46(6): 1497–1502.
- [33] 黄新琦. 生物有机肥防控黄瓜土传立枯病效果及防控机理[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [34] 黄新琦, 蔡祖聪. 土壤微生物与作物土传病害控制[J]. 中国科学院院刊, 2017, 32(6): 593–600.
- [35] McCarty D G, Inwood S E, Ownley, B H, et al. Field evaluation of carbon sources for anaerobic soil disinfestation in tomato and bell pepper production in Tennessee[J]. Hortscience, 2014, 49: 272–280.
- [36] Huang X Q, Liu L L, Weng T, et al. Reductive soil disinfestations combined or not with *Trichoderma* for the treatment of a degraded and *Rhizoctonia solani* infested greenhouse soil[J]. Scientia Horticulturae, 2016, 206: 51–61.
- [37] Huang X Q, Cui H L, Li Yang, et al. The microbial changes during the biological control of cucumber damping-off disease using biocontrol agents and reductive soil disinfestation[J]. BioControl, 2017, 62: 97–109.
- [38] Utsala S, Augé R M, Butler D M. A meta-analysis of the impact of anaerobic soil disinfestation on pest suppression and yield of horticultural crops [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7(213):1254.
- [39] 张慧, 杨兴明, 冉炜, 等. 土传棉花黄萎病拮抗菌的筛选及其生物效应[J]. 土壤学报, 2008, 45(6): 1095–1101.
- [40] Domínguez P, Miranda L, Soria C, et al. Soil biosolarization for sustainable strawberry production[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2014, 34(4): 821–829.

- [41] Shennan C, Muramoto J, Koike S, et al. Anaerobic soil disinfestation is an alternative to soil fumigation for control of some soilborne pathogens in strawberry production[J]. *Plant Pathology*, 2018, 67: 51–66.
- [42] Shennan C, Muramoto J, Koike S, et al. Optimizing anaerobic soil disinfestation for non-fumigated strawberry production in California[J]. *HortScience*, 2010, 45: S270.
- [43] Wen T, Huang X Q, Zhang J B. Effects of biological soil disinfestation and water regime on suppressing *Artemisia selengensis* root rot pathogens[J]. *Soils Sediments*, 2016, 16: 215–225.
- [44] Muramoto J, Shennan C, Baird G, et al. Optimizing anaerobic soil disinfestation for California strawberries[J]. *Acta Horticulturae*, 2014, 1044: 215–220.
- [45] Blok W J, Coenen T C M, Termorshuizen A J, et al. potential of biological soil disinfestation to manage *Fusarium* foot and root rot in asparagus[J]. *Acta Horticulturae*, 2008, 776: 135–144.
- [46] Goud J K C, Termorshuizen A J, Blok W J, et al. Long-term effect of biological soil disinfestation on Verticillium wilt[J]. *Plant Disease*, 2004, 88(7): 688–694.
- [47] Wen T, Huang X Q, Zhang J B, et al. Effects of biological soil disinfestation and water regime on suppressing *Artemisia selengensis* root rot pathogens[J]. *Journal of Soil and Sediments*, 2016, 16(1): 215–225.
- [48] Messiha N A S, van Diepeningen A D, Wenneker M, et al. Biological soil disinfestation (BSD), a new control method for potato brown rot, caused by *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2007, 117: 403–415.
- [49] Strauss S L, Greenhut R F, McCleanet A E, et al. Effect of anaerobic soil disinfestation on the bacterial community and key soilborne phytopathogenic agents under walnut tree-crop nursery conditions[J]. *Plant and Soil*, 2017, 415(1/2): 493–506.
- [50] Browne G, Ott N, Poret-Peterson A, et al. Efficacy of anaerobic soil disinfestation for control of *Prunus* replant disease[J]. *Plant Disease*, 2018, 102(1): 209–219.
- [51] Hewavitharana S S, Mazzola M. Carbon source-dependent efficacy of anaerobic soil disinfestation (ASD) in suppression of *Rhizoctonia* root rot of apple[J]. *Phytopathology*, 2013, 103(6): 60–61.
- [52] 阮维斌, 王敬国, 张福锁, 等. 根际微生态系统理论在连作障碍中的应用[J]. *中国农业科技导报*, 1999, 1(4): 53–58.
- [53] 赵鸿, 彭德良, 朱建兰. 根结线虫的研究现状[J]. *植物保护*, 2003, 29(6): 6–9.
- [54] Katase M, Kubo C, Ushio S, et al. Nematicidal activity of volatile fatty acids generated from wheat bran in reductive soil disinfestation[J]. *Japanese Journal of Nematology*, 2009, 39(2): 53–62.
- [55] Lamers J G, Runia W T, Molendijk L P G, et al. Perspectives of anaerobic soil disinfestation[J]. *Acta Horticulturae*, 2010, 883: 277–283.
- [56] Butler D M, Kokalis-Burell N, Muramoto J, et al. Impact of anaerobic soil disinfestation combined with soil solarization plant-parasitic nematodes and introduced inoculum of soilborne plant pathogens in raised-bed vegetable production[J]. *Crop Protection*, 2012, 39: 33–40.
- [57] Butler D M, Ownley B H, Dee M E, et al. Low carbon amendment rates during anaerobic soil disinfestation (ASD) at moderate soil temperatures do not decrease viability of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia or fusarium root rot of common bean[J]. *Acta Horticulturae*, 2014, 1044(2): 203–208.
- [58] Roskopf E N, Serrano-Pérez P, Hong J, et al. Anaerobic soil disinfestation and soilborne pest management[J]. 2015. 46: 277–305.
- [59] 伍朝荣, 黄飞, 高阳, 等. 土壤生物消毒对番茄青枯病的防控、土壤理化特性和微生物群落的影响[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(7): 1993–1940.
- [60] Wu C R, Huang F, Gao Y, et al. Effect of biological disinfestation on soil improvement, *Ralstonia solanacearum* suppression and tomato growth[J]. *Ecol-Agriculture*, 2017, 25(8): 1173–1180.
- [61] Momma N, Yamamoto K, Simandi P, et al. Role of organic acids in the mechanisms of biological soil disinfestation (BSD)[J]. *General Plant Pathology*, 2006, 72(4): 247–252.
- [62] 郑海柔. 植物疫病的种类[J]. *上海农业科技*, 1981(4): 46–47.
- [63] 李先平, 何云昆, 赵志坚, 等. 马铃薯抗晚疫病育种研究进展[J]. *中国马铃薯*, 2001, 15(5): 290–295.
- [64] 刘耀华, 马新耀, 程作慧, 等. 香茅精油对番茄早疫病菌的抑菌作用及抑菌机制[J]. *应用生态学报*, 2017, 28(9): 3016–3022.
- [65] Serrano-Pérez P, Roskopf M, Santiago A D, et al. Anaerobic soil disinfestation reduces survival and infectivity of *Phytophthora nicotianae* chlamydospores in pepper[J]. *Scientia Horticulturae*, 2017, 215: 38–48.
- [66] Hewavitharana S S, Ruddell D, Mazzola M. Carbon source-dependent antifungal and nematocidal volatiles derived during anaerobic soil disinfestation[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2014, 140(1): 39–52.
- [67] Mitsuo H, Hiroko K K. Biological soil disinfestation using bioethanol fermentation products: Role of residual organic substances[J]. *General Plant Pathology*, 2015, 81(4): 304–314.
- [68] Zavatta M, Shennan C, Muramoto J. Evaluating C-sources for anaerobic soil disinfestation[C]//2014 proceedings of annual international research conference on methyl bromide alternatives and emissions reductions. Orlando, 2014: 12-1/12-4.
- [69] Roskopf E N, Kokalis-Burelle N, Butler D, et al. Development of anaerobic soil disinfestation for florida vegetable and flower production[C]//Proceedings of annual international research conference on methyl bromide alternatives and emissions reductions. Orlando, 2010: 15-1/15-2.
- [70] Roskopf EN, Burelle N, Hong J, et al. Comparison of anaerobic soil disinfestation and drip-applied organic acids for raised-bed specialty crop production in Florida[C]//VIII international symposium chemical and non-chemical soil and substrate disinfestations. Torino, Italy, 2014, 1044: 221–228.