

研究报告

不同生物有机肥对连作菠萝生长及防控心腐病效果

唐浩真¹ 胡英宏¹ 任泽广¹ 杨姝钰¹ 赵艳^{*1} 王蓓蓓¹ 张晓波^{*2} 阮云泽¹¹ 海南大学热带作物学院 海南 海口 570208² 海南大学旅游学院 海南 海口 570208

摘要:【背景】菠萝心腐病是菠萝生产中常见的土传病害。【目的】促进连作菠萝的高效栽培并提高病害防效。【方法】采集连作发病菠萝园土壤,利用盆栽实验研究3种载体(椰糠、泥炭土、菜籽饼)和生防菌株(枯草芽孢杆菌 HL2、链霉菌株 HL3)与商品普通有机肥共同堆制成的生物有机肥对菠萝植株生长及菠萝心腐病防控效果的影响。【结果】与化肥处理(CK)相比,施用生物有机肥处理能促进菠萝植株的生长,显著增加鲜重(叶、茎、根)、干重(叶、茎、根)和 D 叶长(菠萝植株叶片束起时最长的叶片长度);与化肥处理(CK)相比,施用生物有机肥处理均能降低菠萝心腐病发病率;施用商品普通有机肥处理(YJ)防病能力较差,而生物有机肥处理(KC)的防控效果最好,其次为生物有机肥处理(KY、KN、LY),防控效果均为 83.5%。相关分析表明,土壤病原菌(烟草疫霉菌)含量与放线菌、有机质、pH 呈极显著负相关关系($P<0.001$),与土壤速效钾含量呈显著正相关关系($P<0.05$),与发病率呈显著正相关关系($P<0.01$)。【结论】施用生物有机肥可促进菠萝植株生长、降低发病率,对菠萝心腐病有较好的防效,可为菠萝产业健康发展提供参考。

关键词: 菠萝, 心腐病, 生物有机肥, 生物防治

Effect of different biological organic fertilizers on the growth of pineapple under continuous cropping and the heart rot

TANG Haozhen¹ HU Yinghong¹ REN Zeguang¹ YANG Shuyu¹ ZHAO Yan^{*1}
WANG Beibei¹ ZHANG Xiaobo^{*2} RUAN Yunze¹¹ College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570208, China² School of Tourism, Hainan University, Haikou, Hainan 570208, China

Abstract: [Background] The soil-borne heart rot is common in pineapple production. [Objective] This paper aims to enhance the cultivation and disease prevention of pineapple under continuous cropping. [Methods] Soil was collected from the orchards with continuous pineapple cropping for pot experiment. With three substrates (coir, peat soil, rapeseed cake), biocontrol strains (*Bacillus subtilis* HL2, *Streptomyces* HL3), and commercial organic fertilizer, different biological organic fertilizers were prepared and the effect of them on the plant growth and heart rot of pineapple was investigated. [Results]

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31760605); Natural Science Foundation of Hainan Province (320RC475); The Academician Innovation Team of Hainan Province (RZ2000008513ky)

***Corresponding authors:** E-mail: ZHAO Yan: yanbo315@126.com; ZHANG Xiaobo: angiaoo@126.com

Received: 28-02-2021; **Accepted:** 28-05-2021; **Published online:** 11-08-2021

基金项目: 国家自然科学基金(31760605); 海南省自然科学基金(320RC475); 海南省院士创新团队项目(RZ2000008513ky)

***通信作者:** E-mail: 赵艳: yanbo315@126.com; 张晓波: angiaoo@126.com

收稿日期: 2021-02-28; **接受日期:** 2021-05-28; **网络首发日期:** 2021-08-11

Compared with CK (chemical fertilizer only), the biological organic fertilizers promoted the growth of pineapple plants, significantly increased the fresh weight (leaf, stem, root), dry weight (leaf, stem, root), and longest leaf length, and reduced the incidence of heart rot. Among the biological organic fertilizers, KC (80% organic fertilizer + rapeseed cake + HL2) demonstrated the best control effect, followed by KY (80% organic fertilizer + coir + HL2), KN (80% organic fertilizer + peat soil + HL2), and LY (80% organic fertilizer + coir + HL3) with the control rate of 83.5%, respectively. However, YJ (organic fertilizer only) showed the poor control effect. Correlation analysis showed that the content of the soil pathogen (*Phytophthora nicotianae*) was negatively correlated with actinomycetes, organic matter, and pH ($P<0.001$) but positively correlated with soil available potassium content ($P<0.05$) and the incidence ($P<0.01$). **[Conclusion]** In a word, the biological organic fertilizers promoted the growth of pineapple plants and decreased the incidence of heart rot. These results can serve as a reference for the healthy development of pineapple industry.

Keywords: pineapple, heart rot, biological organic fertilizer, biological control

菠萝又称凤梨, 是凤梨科(*Bromeliaceae*)凤梨属(*Ananas*)多年草本植物, 是著名的热带水果之一。我国广东、海南、广西、云南、福建和台湾等省(自治区)为我国菠萝主产区^[1]。其中, 海南岛地处热带, 菠萝的种植面积为 1.28 万 hm^2 , 占全国的 14.65%, 产量 45.19 万 t, 占全国的 20.93%^[2]。

近年来随着人们对菠萝的需求量增加, 菠萝的种植面积不断地扩大, 由于连作模式以及施肥栽培管理模式不当, 严重影响菠萝的产量和品质及病害发生^[3-4]。其中, 菠萝病害已成为限制菠萝生产的重要因素, 最严重的病害为菠萝心腐病, 该病害主要是一种由疫霉属真菌的多个种引起的土传病害^[5-8], 广泛分布于我国海南、广东等菠萝产区, 海南地区主要是烟草疫霉, 严重时可造成 50% 以上的死苗、缺苗^[9-11]。因此, 加强菠萝心腐病的防治研究迫在眉睫。

对于该病害的防治, 国内外的专家及学者都进行了相关研究, 其中施用化肥、喷洒农药、土壤改良等是常用防治土传病害的主要措施^[12-14], 但过量施用化肥及农药易造成土壤环境污染。因此, 在农业生产中需发展环境友好型的防治措施, 其中生物技术是防治土传病害比较有效的措施^[15-17]。目前, 针对生物防治菠萝心腐病的研究主要集中在对致病菌烟草疫霉(*Phytophthora nicotiana*)的鉴定和生防菌资源收集阶段^[6,17-18],

而关于生物有机肥对菠萝心腐病的防控研究尚未见报道。因此, 本研究将生防菌、载体(椰糠、菜籽饼、泥炭土)和商品普通有机肥利用二次发酵技术制成生物有机肥, 通过温室盆栽试验研究生物有机肥对菠萝植株生长和防控菠萝心腐病的效果, 以期为连作障碍菠萝园土壤修复和菠萝生产提供理论依据, 为生物有机肥的推广应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菠萝品种为“金菠萝(MD-2)”, 苗龄 2 个月, 由海南万钟实业有限公司提供。

供试土壤为海相沉积物发育的燥红土, 采自海南省万钟实业有限公司菠萝连作 3 年地块, 病原菌含量 $\geq 5 \times 10^3$ CFU/g。土壤基本理化性质: pH 4.58, 有机质含量 0.73%, 碱解氮 73.01 mg/kg, 有效磷 89.06 mg/kg, 速效钾 21.55 mg/kg。

供试商品普通有机肥料为羊粪有机肥, 由内蒙古锡林郭勒羊养殖专业合作社提供, 有机质 $\geq 45\%$, 总养分($\text{N}+\text{P}_2\text{O}_3+\text{K}_2\text{O}$) $\geq 6\%$ 。

供试生物有机肥为自行堆制, 将对菠萝心腐病病原菌(烟草疫霉菌)有显著拮抗作用的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) HL2 和链霉菌(*Streptomyces*) HL3 (由海南省乐东黎族自治县香蕉枯萎病防控研究所保存提供)分别接种到腐熟商品普通有机肥

与不同的载体(椰糠、菜籽饼、泥炭土)经二次固体发酵 30 d 而成。其中商品普通有机肥和不同的载体(椰糠、菜籽饼、泥炭土)分别按照干重 4:1 的比例混合,将液体菌剂按 50 L/t 的量接种到堆肥进行固体发酵,最终每克干质量肥料含 10^9 个以上有效菌落。其化学指标如下:有机质 $\geq 46.5\%$,含 N 2.63%、 P_2O_5 2.61%、 K_2O 1.91%、水分 28.9%。

供试化肥为国产“长之道”三元复合肥, N: P_2O_5 : K_2O =16:16:16。

1.2 试验设计

温室盆栽试验于 2017 年 12 月 20 日至 2018 年 5 月 20 日在海南省乐东黎族自治县香蕉枯萎病及热带经济作物土传病防控研究所温室内进行。试验设 8 个处理(表 1),每处理设 30 个重复,每个钵装土 5.0 kg。装盆前按土重的 1% (质量分数)施入有机肥或生物有机肥,化肥处理的氮磷钾含量差异用化肥补齐。装盆 5 d 后种苗,每盆定植 1 株。全生长期肥效保持均等,采用常规水肥管理。

1.3 项目测定及方法

1.3.1 土壤理化性状测定

土壤理化性质(pH、有机质、有效磷、速效钾、碱解氮)的测定方法均参照鲍士旦《土壤农化

分析》^[19]。

1.3.2 土壤可培养微生物数量的测定

采用平板稀释涂布计数法^[20],对土壤可培养细菌、真菌、放线菌及病原菌(烟草疫霉菌)数量进行测定。细菌培养采用 LB 培养基^[21],30 °C 培养 24 h;真菌培养采用孟加拉红培养基^[21],28 °C 培养 72 h;病原菌(烟草疫霉菌)培养采用胡萝卜培养基^[22],28 °C 培养 72 h;放线菌培养采用高氏一号培养基^[21],28 °C 培养 72 h。将培养后计数平板上形成的菌落数转换成每克干土形成的菌落数 (Colony Forming Unit, CFU),以 CFU/g 干土表示。

1.3.3 菠萝发病率的测定

菠萝苗定植后,每天观察记录发病的植株数量。菠萝植株出现黄叶、矮小、叶片易脱落,即统计为发病植株。在 90 d 试验后,计算发病率^[23]。

发病率(%)= $\frac{\text{发病株数}}{\text{定植菠萝总株数}} \times 100$;

生防效果(%)= $\frac{CK\text{发病率}-\text{处理发病率}}{CK\text{发病率}} \times 100$ 。

1.3.4 植株长势的测定

菠萝定植 140 d 后记录菠萝叶片数;用卷尺测量菠萝植株叶片束起时最长的叶片长度(菠萝 D 叶长)和宽;菠萝植株收获时取根、茎、叶,对鲜重

表 1 试验处理
Table 1 Treatments in different methods

处理 Treatments	材料 Materials
KY	商品普通有机肥 80%+椰糠 20%+枯草芽孢杆菌(HL2) 80% organic fertilizer+20% coconut bran+Bacillus subtilis HL2
KN	商品普通有机肥 80%+泥炭土 20%+枯草芽孢杆菌(HL2) 80% organic fertilizer+20% peat soil+Bacillus subtilis HL2
KC	商品普通有机肥 80%+菜籽饼 20%+枯草芽孢杆菌(HL2) 80% organic fertilizer+20% rapeseed cake+Bacillus subtilis HL2
LY	商品普通有机肥 80%+椰糠 20%+链霉菌(HL3) 80% organic fertilizer+20% coconut bran+Streptomyces strain HL3
LN	商品普通有机肥 80%+泥炭土 20%+链霉菌(HL3) 80% organic fertilizer+20% peat soil+Streptomyces strain HL3
LC	商品普通有机肥 80%+菜籽饼 20%+链霉菌(HL3) 80% organic fertilizer+20% rapeseed cake+Streptomyces strain HL3
YJ	商品普通有机肥 Organic fertilizer
CK	常规复合肥 Chemical fertilizer (16-16-16)

进行称量, 将称过鲜重的植株剪开、切碎, 于 105 °C 下杀青 30 min 后烘至恒重, 称量干重。

1.3.5 多元回归分析

自变量 x_1 – x_8 即土壤指标, 分别是 pH、有机质、速效钾、碱解氮、有效磷、真菌、细菌、放线菌。因变量 y 为烟草疫霉的 lg 值。采用 Kolmogorov-Smirnov (KS) 方法, 对因变量 y 实行正态性检验, 显著性 $P=0.115>0.05$, 符合正态分布^[24]。通过离差标准化(Deviation Standardization)的方式对自变量 x_1 – x_8 所有数据标准化, 便于建立方程。在 SPSS 软件中, 采用向后回归方式(Backward), 筛选出最优模型。

1.4 数据分析方法

试验数据以 Excel 2003 软件整理数据和作图, 同时采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析, 采用 Pearson 相关分析进行显著性检测, 并进行多元线性回归分析(Multiple Linear Regression Analysis), 采用 R3.6.3 软件使用 Performance Analytics 软件包制作相关性图。

2 结果与分析

2.1 不同处理对菠萝植株生长的影响

由表 2 可知, 菠萝植株收获时与 CK 相比, 生物有机肥处理组(KY、KN、KC、LY、LN、LC)的 D 叶宽和叶片数差异不显著; 与 CK 对照组相比, 生物有机肥处理组(KY、KN、KC、LY、LN、LC)的菠萝植株叶鲜重、茎鲜重、根鲜重分别增加了 49.12%–185.89%、17.8%–324.1%、14.45%–158.55%, 菠萝植株叶干重、茎干重、根干重分别增加了 68.92%–322.98%、78.15%–402.39%、35.09%–229.19%, 菠萝 D 叶长增加了 6.24%–44.95%; 其中, 处理 LN 的叶鲜重、茎鲜重、叶干重、茎干重最高, 分别是 503.46、239.49、109.68、48.28 g; 处理 LC 的根鲜重、根干重最高, 分别达到了 17.53 g 和 10.60 g; 处理 KC 的 D 叶最长为 61.75 cm。

2.2 不同处理对菠萝心腐病防控效果的影响

由表 3 可知, 菠萝定植 140 d 后, CK 对照发病率最高, 达 20%, 显著高于生物有机肥处理组(KY、KN、KC、LY、LN、LC), 其中处理 KC 发病率为 0, 其次为处理 KY、KN、LY, 发病率均为 3.3%; 施用商品普通有机肥(YJ)处理防病能力较差, 生防效果为 33.5%, 而生物有机肥处理(KC)生防效果最好, 达到了 100%, 显著高于其他处理; 与 CK 对照相比, 所有处理烟草疫霉菌数量均呈下降趋势, 其中处理 KC、LC 烟草疫霉菌数量最低且差异显著。

由表 3 还可以看出, 不同生防菌(HL2 和 HL3)制成的生物有机肥, 其中添加 HL2 生防菌的有机肥平均生防率为 89%, 添加 HL3 的生物有机肥平均生防率为 72.5%, 整体而言添加 HL2 生防菌的生物有机肥防控效果是添加 HL3 生防菌的生物有机肥效果的 1.23 倍, 是商品普通有机肥生防效果的 2.66 倍。

2.3 不同处理菠萝土壤理化性质与可培养微生物数量相关关系分析

不同处理菠萝土壤理化性质与微生物的 Pearson 相关性分析见图 1, 结果表明, 烟草疫霉菌与放线菌、有机质、pH 呈极显著性负相关($P<0.001$), 与速效钾呈显著性正相关($P<0.05$); 真菌与有机质呈显著性正相关($P<0.05$); 细菌与碱解氮呈显著性负相关($P<0.05$); 放线菌与 pH 呈极显著正相关($P<0.001$), 与速效钾含量呈极显著负相关($P<0.01$), 与碱解氮呈显著负相关($P<0.05$)。

2.4 不同处理菠萝土壤可培养微生物数量与发病率相关关系分析

由表 4 可知, 烟草疫霉菌数量与发病率呈极显著正相关关系($P<0.01$), 而且两者是高拟合状态($R^2=0.805$), 与菠萝心腐病发病率呈负相关的土壤微生物按相关性大小依次是放线菌、细菌、真菌。其中, 放线菌数量与发病率相关性达到显著水平($P<0.05$), 与烟草疫霉菌数量也存在极显著负相关($P<0.01$), 这说明在高发病的连作菠萝园

表 2 不同处理对菠萝植株生长的影响

Table 2 Effects of different treatments on pineapple plant growth

处理 Treatments	D 叶长 D leaf length (cm)	D 叶宽 D leaf width (cm)	叶片数 Number of leaves (blade)	叶鲜重 Leaf fresh weight (g)	根鲜重 Root fresh weight (g)	茎鲜重 Stem fresh weight (g)	茎干重 Stem fresh weight (g)	根干重 Root fresh weight (g)	叶干重 Leaf dry weight (g)
KY	56.43±1.40de	3.87±0.07a	25±4bcd	333.45±54.38b	7.76±1.21bc	91.91±15.14ab	22.35±3.74ab	4.63±1.61ab	60.37±9.09b
KN	47.40±7.63bc	3.18±0.59a	23±1abc	262.60±24.28b	10.09±0.34c	66.75±15.51a	17.12±3.58ab	5.35±0.73b	43.80±4.30b
KC	61.75±1.79e	3.91±0.66a	29±2cde	480.42±46.16c	15.72±1.75d	156.35±34.82c	40.11±8.51cd	7.56±1.57c	96.18±15.75c
LY	45.26±0.68b	3.71±0.93a	23±3abc	280.90±66.64b	8.65±1.78bc	77.21±14.57a	19.34±4.06ab	4.35±0.70ab	49.03±11.11b
LN	58.33±2.51de	3.91±0.25a	32±4e	503.46±43.06c	16.71±2.43d	239.49±43.09d	48.28±18.31d	8.70±1.92cd	109.68±14.75c
LC	53.53±4.05cd	3.90±0.21a	30±3de	455.75±84.06c	17.53±1.56d	133.46±32.18bc	30.70±8.41bc	10.60±1.25d	93.23±7.70c
YJ	37.10±1.90a	3.16±0.36a	19±3a	117.47±12.03a	4.85±0.56a	45.52±11.66a	9.99±3.65a	2.72±0.45a	25.31±1.04a
CK	42.6±4.61ab	3.41±0.25a	20±1ab	176.10±13.23a	6.78±0.29ab	56.47±14.19a	9.61±2.43a	3.22±0.21ab	25.93±4.59a

注：不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著，下同

Note: Different lowercase letters indicate significant difference among treatments at 0.05 level. The same below

表 3 不同处理对菠萝心腐病的防控效果(定植 140 d 后)
Table 3 Prevention and control effect of different treatments on pineapple heart rot (140 days after planting)

处理 Treatments	发病率 Disease incidence (%)	生防效果 Biocontrol effect (%)	病原菌数量 Nmuber of pathogenic bacteria (lg CFU/g)
KY	3.3	83.5	3.27+0.33ab
KN	3.3	83.5	3.43+0.13ab
KC	0	100	3.19+0.21b
LY	3.3	83.5	3.34+0.42ab
LN	6.6	67	3.43+0.12ab
LC	6.6	67	3.19+0.21b
YJ	13.3	33.5	3.52+0.27ab
CK	20	0	3.85+0.18a

中土壤放线菌数量在减轻连作障碍方面有着重要作用。

2.5 土壤各指标与烟草疫霉 lg 值的多元线性回归分析及评价

从表 5 可以看出, 随着自变量被逐步剔除, 回归方程的总相关系数 R 和决定系数 R^2 逐渐变大, 最优模型为模型 5, 决定系数 R^2 为 0.707, 调整 R^2 为 0.664。表 6 给出多元线性回归方程为: $y=3.366-0.063x_1-0.131x_2+0.070x_5-0.058x_7$, 显著性检验结果表明 x_1 、 x_2 、 x_5 、 x_7 的 P 值均小于 0.05, 说明自变量之间存在显著性差异。方差膨胀系数(Variance Inflation Factor, VIF)^[25] (表 6)分别是 2.289、3.702、2.153、1.161, 小于 5, 自变

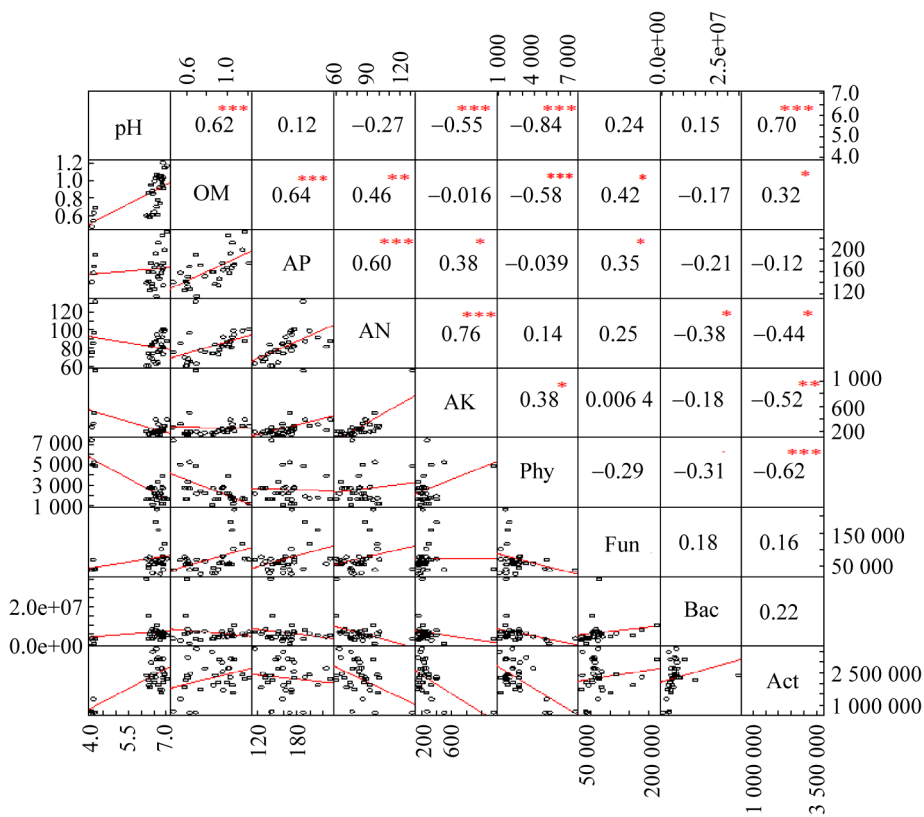


图 1 土壤理化性质和微生物数量的相关性
Figure 1 Correlation between soil physiochemical properties and microbial quantity

注: OM: 有机质; AP: 有效磷; AN: 碱解氮; AK: 速效钾; Phy: 烟草疫霉; Fun: 真菌; Bac: 细菌; Act: 放线菌。*: 在 0.05 水平(双侧)上显著相关; **: 在 0.01 水平(双侧)上显著相关; ***: 在 0.001 水平(双侧)上显著相关
Note: OM: Organic matters; AP: Available phosphorus; AN: Available nitrogen; AK: Available potassium; Phy: *Phytophthora nicotianae*; Fun: Fungus; Bac: Bacteria; Act: Actinomycetes. *: Significant correlation at the 0.05 level (bilateral); **: Significant correlation at the 0.01 level (bilateral); ***: Significant correlation at the 0.001 level (bilateral)

表 4 土壤可培养微生物数量与发病率相关性

Table 4 Correlation between the number of soil culturable microorganisms and the incidence

项目 Item	放线菌 Actinomycetes	烟草疫霉 <i>Phytophthora nicotianae</i>	细菌 Bacteria	真菌 Fungus	发病率 Incidence rate
放线菌 Actinomycetes	1	-0.616**	0.222	0.159	-0.400*
烟草疫霉 <i>Phytophthora nicotianae</i>		1	-0.305	-0.293	0.805**
细菌 Bacteria			1	0.178	-0.020
真菌 Fungus				1	-0.300
发病率 Incidence rate					1

注: **: 在 0.01 水平(双侧)上显著相关; *: 在 0.05 水平(双侧)上显著相关

Note: **: Significant correlation at the 0.01 level (bilateral); *: Significant correlation at the 0.05 level (bilateral)

量 x_1 、 x_2 、 x_5 、 x_7 之间没有共线性, 纳入方程的各个自变量均有统计学意义。多元回归方程 F 检验的 $P<0.05$, 模型拟合度较高, 残差检验合理。

综上所述, 多元回归方程 $y=3.366-0.063x_1-0.131x_2+0.070x_5-0.058x_7$ 符合各项检验标准, 该方程具有统计学意义。由标准化回归系数(表 6)可以看出, 自变量 x_1 、 x_2 、 x_5 、 x_7 对因变量 y 的直接作用分别是 $P_1=-0.323$ 、 $P_2=-0.668$ 、 $P_5=0.355$ 、

$P_7=-0.296$, 4 个自变量对烟草疫霉 lg 值 y 的直接影响中, x_2 (有机质)作用最大, x_5 (有效磷)次之, 第三是 x_1 (pH), 影响最小是 x_7 (细菌含量)。

3 讨论

本研究将不同类型的有机载体(椰糠、菜籽饼、泥炭土)与商品普通有机肥混合作为介质材料, 分别接种具有生防作用的枯草芽孢杆菌和链霉菌制成生物有机肥, 分析其对土壤可培养微生物和菠萝心腐病发生的影响。在菠萝连作土壤中施用商品普通有机肥与生防菌株(芽孢杆菌 HL2 和链霉菌 HL3)经二次发酵制得的生物有机肥可不同程度地促进菠萝植株的生长。其中, 施用生物有机肥处理菠萝鲜重(根、茎、叶)、叶长均高于 CK (化肥)处理, 说明生防菌的施入减轻了病原菌对菠萝幼苗的毒害作用, 从而促进了植物的生长。关于生物有机肥促进作物生长的相关研究已

表 5 多元回归模型汇总表

Table 5 Summary table of multiple regression models

模型 Model	R	R^2	调整 R^2 Adjusted R^2	标准误差 Standard error	Durbin-Watson
1	0.843a	0.710	0.609	0.122 31	
2	0.843b	0.710	0.625	0.119 74	
3	0.843c	0.710	0.640	0.117 32	
4	0.842d	0.710	0.654	0.115 09	
5	0.841e	0.707	0.664	0.113 42	1.696

表 6 模型 5 回归系数输出结果

Table 6 Model 5 regression coefficient output

模型 Model	偏回归系数 Partial regression coefficient	标准误差 Standard error	标准系数 Standard factor	t	显著性 Significance	VIF
常量 Constant	3.366	0.020		167.888	0	
x_2	-0.131	0.039	-0.668	-3.335	0.002	3.702
x_1	-0.063	0.031	-0.323	-2.050	0.050	2.289
x_7	-0.058	0.022	-0.296	-2.636	0.014	1.161
x_5	0.070	0.030	0.355	2.326	0.028	2.153

注: 常量无 VIF 值

Note: There is no value of constant in the multiple regression models

在马铃薯、油菜、香蕉等作物上进行了应用^[26-28], 赵维峰等^[29]研究指出, 施用商品普通有机肥能促进菠萝 D 叶的长度、地下根系的干重。

施用生物有机肥处理能显著降低菠萝心腐病发病率和土壤中烟草疫霉菌的含量。其中, 生物有机肥处理 KC 的植株发病率为 0, 而生物有机肥处理 KY、KN、LY 的植株发病率均为 3.3%。由此可见, 商品普通有机肥与生防菌(枯草芽孢杆菌 HL2)经二次发酵制得的生物有机肥可显著降低菠萝心腐病害的发生。然而单独施用商品普通有机肥的生防效果并不显著, 商品普通有机肥处理 YJ 防病能力较差, 生防效果仅为 33.5%。这可能是由于商品普通有机肥料与芽孢杆菌生防菌株相结合经过二次发酵后, 芽孢杆菌生防菌在土壤中迅速繁殖, 从而优化了土壤微生物种群变化; 土壤微生物以更高的微生物丰度和频繁的相互作用做出反应, 从而产生更多可利用的养分, 进而抑制了土壤病原菌的繁殖, 降低土壤病害的发生, 保证植株的正常生长^[30]。有研究报道指出有机肥与生防菌株结合施用比单独施用有机肥更能抑制土传病害的发生^[31], 马田田等^[32]的研究表明, 施用生物有机肥可以明显减少山药根茎腐病的发生; 王瑾等^[33]研究表明, 施用生物有机肥可以降低香蕉枯萎病的发生。

分析菠萝土壤理化性质与可培养微生物数量、发病率之间的相关性, 进一步明确了与菠萝心腐病害相关的指标。烟草疫霉菌数量与发病率呈极显著正相关关系, 说明菠萝病原菌(烟草疫霉菌)数量是影响菠萝心腐病发病率的直接因素, Espinosa 等^[18]和 Shen 等^[34]在发病菠萝植株上也分离到烟草疫霉菌病原体菌株。然而, 放线菌数量与心腐病发病率和烟草疫霉菌数量均极显著负相关, 可能原因是放线菌在感病土壤中有很强的富集作用, 并通过生产抗菌、抗真菌和杀线虫化合物来预防一些土传疾病, 在土壤微生物受到

剧烈干扰后有利于土壤养分循环和植物生长。Yim 等^[35]对苹果再植病(Replant disease)研究发现, 苹果地上生长量增加的土壤中链霉菌属(放线菌门)细菌的相对丰度有所增加。多元回归分析显示, 烟草疫霉菌数量的影响因子主要有土壤有机质、有效磷和 pH。其中 Pearson 相关性分析表明, 与烟草疫霉菌数量极显著负相关的是土壤有机质和 pH。Wang 等^[36]研究指出, 生物有机肥处理土壤的 pH 值相比化肥处理显著增加。Pan 等^[37]研究发现生物有机肥施入土壤后土壤有机质含量增加, 对土壤生物活性的维持与提升具有重要作用, 从而抑制病原菌。在此推测这些因素变化将影响连作菠萝园土壤微生物群落结构的变化。

平板稀释涂布法证实了施用生物有机肥能够降低菠萝可培养病原菌数量, 但对土壤微生物群落结构还未知, 接下来会进一步利用高通量测序方法, 系统研究分析生物有机肥对菠萝土壤微生物优势种群的变化。王蓓蓓^[38]研究发现香蕉病原菌数量与香蕉枯萎病发病率呈正相关。这一结论与本研究菠萝病原菌(烟草疫霉)和菠萝心腐病发病率呈正相关结论相符。

4 结论

(1) 与化肥处理(CK)相比, 施用生物有机肥处理能促进菠萝植株的生长, 显著增加鲜重(叶、茎、根)、干重(叶、茎、根)和 D 叶长。

(2) 与化肥处理(CK)相比, 施用生物有机肥处理均能降低菠萝心腐病发病率; 施用商品普通有机肥处理(YJ)防病能力较差, 而生物有机肥处理(KC)生防效果最好, 其次为处理 KY、KN、LY, 防控效果均为 83.5%。

(3) 相关分析表明, 土壤病原菌(烟草疫霉菌)含量与放线菌、有机质、pH 呈极显著负相关关系($P<0.001$), 与土壤速效钾含量呈显著正相关关系($P<0.05$), 与发病率呈显著正相关关系($P<0.01$)。

REFERENCES

- [1] Guo JY, Zhang HQ, Yang Y, Yang JM, Tang HZ, Deng Y, Ruan YZ, Zhao Y. Soil nutrient evaluation of pineapple orchards based on factor and cluster analysis[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2019, 50(1): 137-143 (in Chinese)
郭继阳, 张汉卿, 杨越, 杨劲明, 唐浩真, 邓燕, 阮云泽, 赵艳. 基于因子-聚类分析的菠萝园土壤养分状况评价[J]. 土壤通报, 2019, 50(1): 137-143
- [2] Deng CM, Li YP, Liang WH, Ye L. Present situation and countermeasures of pineapple industry in China[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2018, 46(6): 1031-1034 (in Chinese)
邓春梅, 李玉萍, 梁伟红, 叶露. 我国菠萝产业发展现状及对策[J]. 山西农业科学, 2018, 46(6): 1031-1034
- [3] Du ZL, Liu EP, Liu HQ, Jin Y. Current situation, issues and countermeasure of pineapple industry in Hainan[J]. Tropical Agricultural Engineering, 2015, 39(2): 33-39 (in Chinese)
杜召来, 刘恩平, 刘海清, 金琰. 海南省菠萝产业发展现状、问题及对策研究[J]. 热带农业工程, 2015, 39(2): 33-39
- [4] Liu YN, Ma HY, Zhang JZ, Yan CM, Shi WQ. Effects of different fertilizer application rates on yield and quality of pineapple under continuous cropping condition[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(21): 71-74 (in Chinese)
刘亚男, 马海洋, 张江周, 严程明, 石伟琦. 连作土壤不同施肥水平对菠萝产量和品质的影响[J]. 广东农业科学, 2014, 41(21): 71-74
- [5] Shen HF, Lin BR, Sun GM, Pu XM, Lu XH, Zhang JX, He YB, Zhan RL. Research on the biological characteristics of *Phytophthora nicotianae*, a pathogen of heart rot of pineapple in Hainan[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(2): 92-94, 237 (in Chinese)
沈会芳, 林壁润, 孙光明, 蒲小明, 陆新华, 张景欣, 何衍彪, 詹儒林. 海南菠萝心腐病菌烟草疫霉的生物学特性研究[J]. 广东农业科学, 2014, 41(2): 92-94, 237
- [6] Cheng JZ, Wei XY. Identification of pineapple *Phytophthora* pathogen of pineapple leaf heart-rot in Guangzhou region[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2003, 18(2): 134-135 (in Chinese)
成家壮, 韦小燕. 菠萝心腐病原疫霉种的鉴定[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(2): 134-135
- [7] Lv SJ, Huang HL, Ruan YZ, Zhao Y, Wang BB, Qin HL. Isolation, screening and identification of antagonistic bacteria against pineapple heart rot[J]. South China Fruits, 2017, 46(3): 83-87 (in Chinese)
吕诗锦, 黄华莲, 阮云泽, 赵艳, 王蓓蓓, 秦海利. 菠萝心腐病拮抗菌的分离、筛选及鉴定[J]. 中国南方果树, 2017, 46(3): 83-87
- [8] Qi PK. Guangdong Fruit Tree Fungus Diseases[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
戚佩坤. 广东果树真菌病害志[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [9] Zhang N, Chen ZT, Zhang XD, Ren MY. Pineapple and pest management in China[J]. South China Fruits, 2009, 38(3): 52-55 (in Chinese)
张妮, 陈泽坦, 张小冬, 任梅英. 我国菠萝病虫害及其防治[J]. 中国南方果树, 2009, 38(3): 52-55
- [10] Luo JJ, Liu QG, He YB, Li ZB, Wei CD. Identification of the pathogen causing pineapple heart-rot disease[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012, 39(13): 90-92 (in Chinese)
罗建军, 刘琼光, 何衍彪, 李志斌, 魏楚丹. 广东菠萝心腐病病原鉴定[J]. 广东农业科学, 2012, 39(13): 90-92
- [11] Zhang KM, Li YD, Zheng FC, Li R. Identification and mating type of *Phytophthora* spp. from pineapple in Hainan[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 1992, 13(2): 89-92 (in Chinese)
张开明, 黎乙东, 郑服丛, 李锐. 海南岛菠萝疫霉种及交配型的研究[J]. 热带作物学报, 1992, 13(2): 89-92
- [12] Gu H, Jia ZW, Hou XW, Zhang LB. Effects and mechanism of calcium chloride treatment on reducing pineapple black rot[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(12): 2481-2488 (in Chinese)
谷会, 贾志伟, 侯晓婉, 张鲁斌. 氯化钙处理对菠萝黑腐病的防控效果及机制分析[J]. 热带作物学报, 2019, 40(12): 2481-2488
- [13] Chen J, Xu MG, Sun GM, Shi WQ, Xian AM, Ma HY. Effect of nitrate nitrogen on inhibiting the vegetative growth of pineapple[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2018(4): 82-86 (in Chinese)
陈菁, 徐明岗, 孙光明, 石伟琦, 洗皑敏, 马海洋. 叶面追施硝态氮肥抑制菠萝营养生长效应[J]. 中国土壤与肥料, 2018(4): 82-86
- [14] Wei QY, Xu J, Wang XM, Zhao J, Zhou J, Wei Y, Huang LJ. Effects of different nitrogen levels on growth, fruit quality and yield of 'Tainong16' pineapple[J]. China Fruits, 2019(3): 71-73 (in Chinese)
韦巧云, 徐健, 王小媚, 赵静, 周婧, 韦优, 黄丽君. 不同施氮水平对‘台农 16 号’菠萝生长、果实品质和产量的影响[J]. 中国果树, 2019(3): 71-73

- [15] Mia MAB, Shamsuddin ZH, Wahab Z, Marziah M. Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa* spp. cv. 'Berangan')[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 126(2): 80-87
- [16] Kavino M, Harish S, Kumar N, Saravanakumar D, Samiyappan R. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 45(2): 71-77
- [17] Zhang N, He X, Zhang J, Raza W, Yang XM, Ruan YZ, Shen QR, Huang QW. Suppression of *Fusarium* wilt of banana with application of bio-organic fertilizers[J]. *Pedosphere*, 2014, 24(5): 613-624
- [18] Espinosa RCJ, Nieto AD, De Alba DLG, Villegas MA, Aguilar PLA, Victoria AE. Etiology of the heart rot of pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) MD2 cultivar in Isla[J]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 2015, 33(1): 104-115
- [19] Bao SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [20] Li FD. Agricultural Microbiology Experiment Technology[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1996 (in Chinese)
李阜棣. 农业微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996
- [21] Deng X, Li QF, Hou XW, Hong K. The ecological characteristics of culturable microbes isolated from infected soil by *Fusarium* wilt of banana[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2011, 32(2): 283-288 (in Chinese)
邓晓, 李勤奋, 侯宪文, 洪葵. 香蕉枯萎病区土壤可培养微生物生态特征[J]. *热带作物学报*, 2011, 32(2): 283-288
- [22] Qin HL. Isolation, identification and biological control of a pathogen of heart rot of pineapple in Hainan[D]. Haikou: Master's Thesis of Hainan University, 2015 (in Chinese)
秦海利. 海南金菠萝心腐病致病菌的分离鉴定及生防效应研究[D]. 海口: 海南大学硕士学位论文, 2015
- [23] Wu Y, Hou CL, Lin XL, Lin ZB. Field efficacy trials cucumber blight[J]. *Fujian Science & Technology of Tropical Crops*, 2006, 31(3): 12-13, 22 (in Chinese)
武英, 侯翠丽, 林晓兰, 林志斌. 黄瓜枯萎病田间药效试验[J]. *福建热作科技*, 2006, 31(3): 12-13, 22
- [24] Du JJ, Chen ZW. Realizing path analysis by SPSS linear regression[J]. *Bulletin of Biology*, 2010, 45(2): 4-6 (in Chinese)
杜家菊, 陈志伟. 使用 SPSS 线性回归实现通径分析的方法[J]. *生物学通报*, 2010, 45(2): 4-6
- [25] Zhang YS. Example study of multi-linear regression analysis[J]. *Science & Technology Information*, 2009(9): 54-56 (in Chinese)
张宇山. 多元线性回归分析的实例研究[J]. *科技信息*, 2009(9): 54-56
- [26] Hao XL. Study on the control effect of new organic fertilizer and biological agents on soil borne diseases of potato[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2020 (in Chinese)
郝向玲. 新型有机肥和生物制剂对马铃薯土传病害防治效果的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2020
- [27] Gu P, Tian F, Shen ZS, Tong JH. Effects of bio-organic fertilizer on soil nutrients and rapeseed yield in low-yield rapeseed fields[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2020(6): 31-33 (in Chinese)
古鹏, 田峰, 沈真实, 童金花. 生物有机肥对低产油菜田土壤养分和油菜产量的影响[J]. *湖南农业科学*, 2020(6): 31-33
- [28] Yuan XF, Sun YH, Zhu CZ, Zhu H, Wang S, Shen ZZ, Wang BB, Li R, Shen QR, Ruan YZ. Rotation combined with bio-organic fertilizer application to promote banana growth[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2018, 24(1): 60-67 (in Chinese)
袁先福, 孙玉菡, 朱成之, 朱虹, 王帅, 沈宗专, 王蓓蓓, 李荣, 沈其荣, 阮云泽. 轮作联用生物有机肥促进香蕉生长[J]. *应用与环境生物学报*, 2018, 24(1): 60-67
- [29] Zhao WF, Yang WX, Liu SH, Pei HX, Zhang YF. Effects of different base fertilizer application on pineapple's growth and soil enzyme activity[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2018, 46(10): 63-66 (in Chinese)
赵维峰, 杨文秀, 刘胜辉, 裴红霞, 张艳芳. 不同基肥处理对菠萝生长和土壤酶活的影响[J]. *贵州农业科学*, 2018, 46(10): 63-66
- [30] Ye L, Zhao X, Bao EC, Li JS, Zou ZR, Cao K. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 177
- [31] Luo J, Ran W, Hu J, Yang XM, Xu YC, Shen QR. Application of bio-organic fertilizer significantly affected fungal diversity of soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2010, 74(6): 2039-2048
- [32] Ma TT, Yang XM, Shen QR, Chen W. Effects of bio-organic fertilizer on controlling root and stem rot and promoting growth of yam[J]. *Soils*, 2013, 45(2): 1301-1305 (in Chinese)

- 马田田, 杨兴明, 沈其荣, 陈巍. 生物有机肥对防治山药根茎腐病和促进山药生长的研究[J]. 土壤, 2013, 45(2): 1301-1305
- [33] Wang J, Dong WB, Wei JH, Zhang Y, Mo CE, Wei CH, He YQ, He TG. Effects of bio-organic fertilizer on plant growth and banana *Fusarium* wilt control[J]. Journal of southwest agriculture, 2017, 30(7): 1565-1569 (in Chinese)
王瑾, 董文斌, 韦家华, 张野, 莫成恩, 韦彩会, 何永群, 何铁光. 生物有机肥对香蕉植株生长和香蕉枯萎病防控研究[J]. 西南农业学报, 2017, 30(7): 1565-1569
- [34] Shen HF, Lin BR, Zhan JX, Pu XM. First report of pineapple heart rot caused by *Phytophthora nicotianae* in Hainan province, China[J]. Plant Disease, 2013, 97(4): 560
- [35] Yim B, Winkelmann T, Ding GC, Smalla K. Different bacterial communities in heat and gamma irradiation treated replant disease soils revealed by 16S rRNA gene analysis-contribution to improved aboveground apple plant growth?[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 1224
- [36] Wang L, Li J, Yang F, Yaoyao E, Raza W, Huang QW, Shen QR. Application of bioorganic fertilizer significantly increased apple yields and shaped bacterial community structure in orchard soil[J]. Microbial Ecology, 2017, 73(2): 404-416
- [37] Pan GX, Zhou P, Li ZP, Smith P, Li LQ, Qiu DS, Zhang XH, Xu XB, Shen SY, Chen XM. Combined inorganic/organic fertilization enhances N efficiency and increases rice productivity through organic carbon accumulation in a rice paddy from the Tai Lake region, China[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2009, 131(3/4): 274-280
- [38] Wang BB. Combined control on *Fusarium* wilt of banana by rotation together with application of bio-organic fertilizer and its action mechanism[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2015 (in Chinese)
王蓓蓓. 轮作及生物有机肥防控香蕉土传枯萎病的土壤微生物机制研究[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2015