核桃青皮制备土壤消毒剂的应用研究

杨 霞,吴柳燕,朱佳敏,赵玉雪,付 莉,付 品,孙建昌* (贵州省核桃研究所,贵阳 550005)

摘 要:采用核桃青皮的乙醇提取物和核桃青皮渣来制备土壤消毒剂,以商品化的土壤消毒剂棉隆作对比,研究土壤消毒剂对土壤性质和土壤微生物多样性的影响及对番茄早疫病的防治效果。研究表明,核桃青皮的乙醇提取物和核桃青皮渣都能调节土壤的pH值,使土壤中的水解氮、有效磷、速效钾及有机质含量增加,使土壤中的微生物多样性增加。当用配方(核桃青皮提取物:硫酸铜:生石灰:米糠:干鸡粪=10:5:10:10:2)进行土壤消毒时对番茄早疫病的防效最好,达到71.9%,高于商品化的土壤消毒剂棉隆。核桃青皮提取物或核桃青皮渣与硫酸铜、生石灰、米糠、干鸡粪按照一定比例混配均能诱导番茄过氧化物酶(POD)含量的增加。

关键词:核桃青皮;土壤消毒剂;番茄早疫病

中图分类号:S472

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2022)01-0087-04

Study on the Application of Walnut Peel to Prepare Soil Disinfectant

YANG Xia, WU Liuyan, ZHU Jiamin, ZHAO Yuxue, FU Li, FU Pin, SUN Jianchang* (Guizhou Walnut Research Institute, Guiyang 550005, China)

Abstract: The effects of soil disinfectant on soil properties and soil microbial diversity and the control effect of soil disinfectant on tomato early blight were studied by using the ethanol extract of walnut peel and walnut peel residue to prepare soil disinfectant and chose dazomet as control. The results showed that the ethanol extract and walnut peel residue regulated the pH value of soil, increase the contents of hydrolyzed nitrogen, available phosphorus, available potassium and organic matter in soil, and increase the microbial diversity in soil. When using the formula (walnut peel extract: copper sulfate: quicklime: rice bran: dried chicken manure = 10:5:10:10:2) for soil disinfection, the control effect against tomato early blight was 71.9%, which was higher than dazomet. Walnut peel extract or walnut peel residue mixed with copper sulfate, quicklime, rice bran and dried chicken manure in a certain proportion could induce the increase of POD content in tomato.

Key words: Walnut peel; Soil disinfectant; Tomato early blight

核桃青皮又称青龙衣,是核桃外部的绿色果皮。我国核桃栽培面积居世界首位,核桃青皮年产量在35万吨以上。核桃果实采收后,大量青皮成为垃圾堆放在田间、地头或沟边,造成了资源浪费和环境污染,如果对其加以利用,不仅可以防止环境污染,还可以实现废物循环利用,提高核桃青皮的附加值,增加核桃青皮的利用率和果

农的收入。国内外研究表明,核桃青皮的溶剂提取物有抑菌、杀虫、抗病毒活性以及化感作用[1-7]。目前,核桃青皮主要用于提取活性物质,也有将核桃青皮作为原料制备生物有机肥[8]。因此,若能将核桃青皮的抑菌活性和青皮的养分相结合,制成一种绿色环保的土壤消毒剂,不仅能充分利用资源,而且还能增加果农的收入,为核桃青皮的循环利用奠定一定基础。

收稿日期:2019-12-16

基金项目:贵州省工程技术研究中心(黔科合平台人才【2019】 5202号);贵州省科技计划项目(黔科合支撑【2019】 2330号);贵州省林业局优秀青年人才培养专项资金 项目(黔林科合J字【2019】12号)

作者简介:杨 霞(1990-),女,工程师,硕士,从事核桃加工利用 及病虫害防治研究。

通讯作者: 孙建昌, 男, 研究员, E-mail: 373765119@qq.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

核桃青皮采自贵州省正安县瑞溪镇李家镇核桃果园,经70°世、干后使用,测定含水率为10.2%。试验试剂为:无水乙醇、丙酮、乙醚、葡萄糖、苯酚、浓硫酸、核黄素、甲硫氨酸、磷酸缓冲

液、氮蓝四唑、EDTA-Na₂、愈创木酚、H₂O₂、KH₂PO₄、硫代巴比妥酸、三氯乙酸、石英砂、碳酸钙粉、甲醇(均购自贵州迪大生物有限公司),98% 微粒型棉隆(南通施壮化工有限公司)。试验土壤采自贵州省关岭县龙潭办事处落叶新村大寨组蔬菜基地。番茄种子为湘娇·高原红(湖南奥润农业有限公司),番茄早疫病病原菌(Alternaria solani Sorauer)由贵州省林科院分离鉴定。

1.2 试验仪器

低速台式离心机(无锡市瑞江分析仪器有限公司),TGL20M高速冷冻离心机(长沙迈佳森仪器设备有限公司),超声波萃取器(上海精宏试验设备有限公司),干燥箱(上海市实验仪器总厂),HH-S恒温水浴锅(常州翔天实验仪器厂),紫外可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司),FA2004N电子天平(上海精密科学仪器有限公司),PRX-150C人工气候箱(上海皓庄仪器有限

公司),SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),RE-52AA旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

1.3 试验方法

1.3.1 核桃青皮有效成分提取

称取核桃青皮粉末5000g,按照1:15的料液 比与60%乙醇混合,在100W,50℃条件下超声2 h。将液体过滤,得到核桃青皮滤液和滤渣,将滤 渣自然风干得到青皮渣;将核桃青皮滤液倒入圆 底烧瓶,减压蒸馏至浸膏状,得到青皮提取物。

1.3.2 核桃青皮制备土壤消毒剂配方及处理

按照表1的配方配制土壤消毒剂,称取不同配方的土壤消毒剂300g,用2L的水稀释后浇于20kg土壤中,与土壤搅拌均匀,保持土壤含水率70%~80%,覆膜15d,敞气5d,然后将播种1月后的健壮番茄幼苗移栽到不同处理的土壤中。

表 1	+	壤	沿	畫	訓	邢	Ħ
1X I		枒	/H	##	ניוכ	ㅂㄴ	7.1

配方名称	青皮提取物(份数)	青皮渣(份数)	硫酸铜(份数)		生石灰(份数)	米糠(份数)	干鸡粪(份数)
配方一				青皮提取物			
配方二				青皮提取渣			
配方三	10	-	5		10	10	2
配方四	10	-	5		10	10	5
配方五				98% 微粒型棉隆			

1.3.3 土壤消毒剂对土壤理化性质的影响

分别采集处理前后的土壤,根据国标 NY/T 1121.24-2012测定土壤的全氮、LY/T 1228-2015测定土壤的水解氮、NY/T 88-1988测定土壤的全磷、NY/T 1121.7-2014测定土壤的有效磷、NY/T 1121.6-2006测定土壤的有机质、NY/T 87-1988测定土壤的全钾、NY/T 889-2004测定土壤的速效钾。

1.3.4 土壤消毒剂对微生物多样性的影响

采用 Illumina 高通量测序技术检测处理前后的土壤微生物多样性,土壤 DNA 提取及序列检测由上海美吉生物医药科技有限公司完成,细菌测序采用的引物为 16S rRNA(338F:5′-ACTCCTACGG GAGGCAGCAG-3′; 806R: 5′-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3′),真菌测序采用的引物为 18 SrRNA (ssu0817F: 5′-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3′)。对比分析不同处理下土壤微生物多样性的变化情况。

1.3.5 土壤消毒剂对植株生长的影响

2019年7月将番茄种子播种在大盆中,生长1

个月后,选择壮苗移栽到经过土壤消毒剂消毒的土中,分盆栽种,每盆栽种1株,每个处理的土样种植3盆,重复3次,共计9株,以未消毒的土壤作为空白对照、以购买的化学消毒剂(棉隆)作为阳性对照。栽种一周后将番茄早疫病病原菌(Alternaria solani Sorauer)菌液浇入土中,每盆浇入50mL菌液,菌液孢子浓度为 $5\times10^{\circ}$ 个/mL。观察记录番茄早疫病的发病情况,番茄的病级分级如表2所示。病情指数= Σ [(各级病株数×相对级数值)/(总株数×4)]×100;防治效果(%)=[(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数]×100。30 d后测定番茄的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶

表 2 番茄植株病级分级情况

病级	植株症状
Ι	全株无病症
${\rm I\hspace{1em}I}$	叶片<30%出现小褐斑点,茎秆健康
${\rm I\hspace{1em}I}$	叶片30%~50%出现小褐斑点,茎秆<30%出现小褐斑点
IV	叶片>50%出现小褐斑点或叶片干枯,茎秆30%~60%出
11	现小褐斑点
V	叶片全部干枯或茎秆环一圈软腐,整株死亡

(POD)、丙二醛(MDA)生理指标的变化。

2 结果与分析

2.1 土壤消毒剂对土壤理化性质的影响

由图1可知,配方一、配方二、配方三、配方 四、配方五均能使土壤的pH值升高,改善酸性土 壤;配方五(棉隆)处理的土壤全氮含量要高于其 他处理;配方一、配方二、配方三处理的土壤水解 氮含量比配方五(棉隆)及空白对照高,配方一和配方二的水解氮含量高于其他处理,说明青皮提取物和青皮渣均能增加土壤中水解氮;配方一处理的土壤有效磷含量与配方五(棉隆)相当,均高于其他处理;各处理的全钾含量相差不大,配方一、配方二、配方三、配方四、配方五(棉隆)处理的土壤速效钾和有机质含量均高于空白对照,说明经过处理后土壤中的速效钾和有机质成分增加。

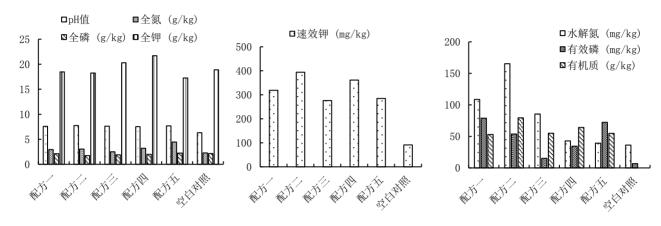


图 1 土壤消毒剂对土壤理化性质的影响

2.2 土壤消毒剂对土壤微生物多样性的影响

表3、表4显示了不同处理下样本的细菌多样性指数和真菌多样性指数。其中,Ace、Chao、Simpsom、Shannon都是用来估算样品中微生物多样性的指数,配方一、配方二使土壤细菌和真菌的多样性指数增加,配方三、配方四、配方五使土壤细菌和真菌的多样性指数减少,说明配方一、

配方二有益于土壤微生物多样性增加,而配方三、配方四、配方五具有一定的杀菌作用,杀灭了土壤中一部分微生物,导致土壤微生物多样性降低。

2.3 土壤消毒剂对植株生长的影响

由图 2 可知,配方三和配方四对番茄早疫病的防治效果较好,分别为 71.9% 和 60.6%。配方一、配方二和配方五(棉隆)对番茄早疫病的防治

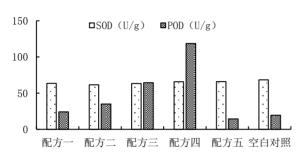
土壤消毒剂配方	Ace	Chao	Coverage	Shannon	Simpson	OTU	 序列
工象们母川癿刀	Ace	Chao	Coverage	Shannon	Simpson	010	71/54
配方一	1 448.230 5	1 455.323 3	0.997 52	6.431 52	0.045 54	1 325	35 781
配方二	1 425.134 3	1 428.543 9	0.996 87	6.352 14	0.046 56	1 258	36 254
配方三	1 385.280 7	1 402.138 1	0.995 49	5.548 30	0.019 04	1 304	35 289
配方四	1 378.243 1	1 386.435 2	0.995 42	5.535 47	0.037 25	1 356	38 546
配方五	1 412.003 1	1 416.415 5	0.996 913	6.105 55	0.006 74	1 367	35 314
空白对照	1 415.610 8	1 417.502 4	0.996 633	6.252 45	0.003 90	1 360	35 636

表3 细菌多样性指数表

表 4 真菌多样性指数表

土壤消毒剂配方	Ace	Chao	Coverage	Shannon	Simpson	OTU	序列
配方一	188.350 3	183.462 3	0.999 78	2.588 504	0.104 478	120	45 786
配方二	178.410 7	171.233 2	0.999 75	2.825 344	0.115 546	157	46 578
配方三	155.856 1	153.588 2	0.999 33	2.267 080	0.181 811	128	44 798
配方四	146.321 2	150.245 4	0.999 46	2.233 568	0.265 547	116	45 331
配方五	160.480 1	159.915 8	0.999 85	2.528 304	0.153 557	158	45 304
空自对照	176.006 5	181.363 6	0.999 645	2.496 404	0.149 153	169	47 867

效果较差。由图3可知,不同配方的土壤消毒剂处理对番茄的SOD酶活性影响不大;配方三和配方四对番茄POD的影响较大,配方三和配方四的POD值明显大于空白对照,说明配方三和配方四均能诱导植株POD的增加,从而增加植株的抗病能力。丙二醛含量的多少说明了植物细胞膜受伤害的程度,空白对照和配方五(棉隆)处理的番茄植株丙二醛含量较高,说明植株受到的伤害严重,而配方三和配方四的丙二醛含量较低,说明植株受到的伤害较轻,土壤消毒剂配方对番茄起到了一定的保护作用。



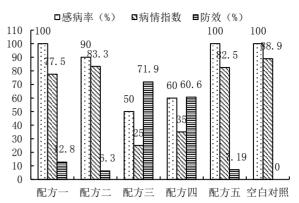


图 2 不同处理番茄 30 d 内感病率及防效

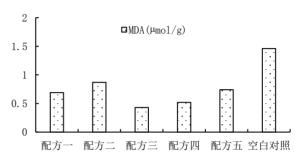


图3 土壤消毒剂处理30d后番茄的酶活性变化

3 结 论

核桃青皮的乙醇提取物和过滤的核桃青皮渣都能调节土壤的pH值,改善酸性土壤,并使土壤中的水解氮、有效磷、速效钾及有机质含量增加,增加土壤中的微生物多样性。用核桃青皮提取物或核桃青皮渣与硫酸铜、生石灰、米糠、干鸡粪混配后,可以在增加土壤养分的同时,有效防治番茄早疫病。配方三(核桃青皮提取物:硫酸铜:生石灰:米糠:干鸡粪=10:5:10:10:2)对番茄早疫病的防效最好,达到71.9%,高于商品化的土壤消毒剂棉隆(配方五)。配方三和配方四(核桃青皮渣:硫酸铜:生石灰:米糠:干鸡粪=10:5:10:10:5)均能增加番茄防御酶含量,提高抗病能力。

传统方法常用生石灰进行土壤消毒,虽然杀菌效果好,但是易造成土壤板结;而商品化的土壤消毒剂(棉隆、氯化苦等)虽然具有一定杀菌效果,但是不能增加土壤的营养成分,而且容易造成农药残留,污染土壤和水体;土壤消毒剂溴甲烷可有效杀灭土壤中的真菌、细菌、土传病害、昆虫、螨类和线虫等,减轻病虫害,提高产量,但是溴甲烷使用不当具有消耗臭氧层、危害人类健康等问题,已经逐渐被淘汰。因此,采用核桃青皮作为原料制备的土壤消毒剂(配方三和配方四)不仅具有较好的消毒效果,而且能够增加土壤的

养分,满足安全、环保的土壤消毒剂制备要求。 本研究为核桃青皮在土壤消毒剂上的利用提供了 一定理论基础,但是由于实验配方较少、对土壤 微生物多样性有一定影响,其具体的开发利用还 有待进一步探索。

参考文献:

- [1] 翟梅枝,王 磊,何文君,等.核桃青皮乙醇提取物抑菌活性研究[J].西北植物学报,2009(12);2542-2547.
- [2] 王刚霞,彭新媛,吴忠红,等.核桃青皮提取物对几种采后病原真菌抑制作用的研究[J].食品工业科技,2014,35(10):141-143.
- [3] 王宏虬,缪福俊,李 彪,等. 核桃青皮提取物对马铃薯蚜虫与瓢虫的杀虫活性[J].江苏农业科学,2012,40(7);112-114.
- [4] 高美娟,任建军,师光禄,等.核桃青皮复配营养液对设施草 莓的杀螨及营养效果[J].江苏农业学报,2013(6):1320-1325.
- [5] 张新华.核桃青皮中次生物质抗病毒活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学,2008.
- [6] 翟梅枝,朱天慧,贾彩霞.核桃青皮中的低极性组分对几种植物种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 西北林学院学报,2009,24(4):156-159.
- [7] 王晓玲. 胡桃醌类物对荞麦苗生长及保护酶活性的影响 [D]. 太原: 山西大学, 2012.
- [8] 杨 阳,汤小宁,张加魁,等.利用核桃青皮渣为主料制备 生物有机肥及在葡萄上的应用[J].山东农业科学,2017,49 (11):86-90.

(责任编辑:刘洪霞)