

不同土壤改良剂对番茄青枯病的防治效果

刘肖肖^{1,2}, 董元华^{1,2*}, 李建刚¹

(1. 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室 南京土壤研究所, 南京 210008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为了探索防治番茄青枯病的有效途径, 通过盆栽试验, 以不同比例混合配施 4 种土壤改良剂(矿物粉、酵母残渣、壳聚糖、海藻残余物), 以便筛选出优化配方, 并对其抑制作物发病的机理进行初步研究。结果表明: (1) 发病高峰期, 施用土壤改良剂配方 C (矿物粉: 酵母残渣=90%:10%) 及配方 F (壳聚糖) 显著地降低了番茄青枯病的发生, 防效分别达到 98.3% 和 66.3%, 并且分别比对照推迟发病 19 d 和 10 d; (2) 配方 C 及配方 F 在提高植株长势上同样作用明显, 与 CK 相比可以显著增加叶面积、茎粗、株高; (3) 在一定土壤酸性范围内 (pH 5.0~6.5), 病情指数与土壤 pH 值存在显著正相关, 发病时间与 pH 值存在显著负相关; (4) 配方 C 对微生物群落有较好的调控作用, 不仅可以抑制病原菌的增长, 而且显著提高了土壤微生物对碳源的利用率及微生物物种丰富度, 增强土壤微生物生态系统的稳定性, 从而达到防病的效果。

关键词: 土壤改良剂; 番茄青枯病; 防治效果; 土壤性质

中图分类号: S156.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)07-1368-07 doi:10.11654/jaes.2013.07.013

Effects of Soil Amendments on Suppression of Bacterial Wilt of Tomato

LIU Xiao-xiao^{1,2}, DONG Yuan-hua^{1,2*}, LI Jian-gang¹

(1. Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Application of soil amendments has been proposed as an excellent agronomic strategy to suppress bacterial wilt of tomato infected by *Ralstonia solanacearum*. To evaluate the effects of soil amendments on the disease incidence and provide optimized compounds formula, compounds of rock dust, yeast-produced residue, chitosan, and sodium alginate produced residue were applied to the soil separately or mixed at different ratios (85%:15%, 90%:10% and 95%:5%) in the greenhouse experiment. Results indicated that treatments C (rock dust: yeast-produced residue=9:1) and F (chitosan) were the most effective formulas in suppressing the bacterial wilt with the control efficacies of 98.3% and 66.3%, respectively. Furthermore, the appearances of diseased symptoms of these two treatments were delayed by 19 d and 10 d, respectively. Comparing to CK, formula C and F also could significantly promote plant growth by increasing leaf area, plant height, and stem diameter. Within a certain soil acidity (pH 5.0~6.5), disease severity had highly significant positive correlation with soil pH, however, there was a significant negative correlation between the time of wilt attack and soil pH. Biolog analyses suggested that formula C could not only improve soil microbial community structure but also increase the rate of substrate utilization of microbe and the microbial species richness. This enhanced the stability of soil microbial ecosystem and benefited soil pathogen suppression, thus obtained the effect of disease suppression.

Keywords: soil amendments; bacterial wilt of tomato; disease-control effect; soil properties

番茄青枯病 (Bacterial wilt of tomato) 是一种由青枯劳尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*) 引起的毁灭性重

大的细菌性土传病害^[1]。发病植物维管束遭到破坏^[2-3], 茎叶萎蔫下垂直至全部枯死, 是世界上危害最大、分布最广、造成损失最严重的植物病害之一^[4-5]。番茄青枯病的防治方法主要有 4 种, 即化学农药、生物防治、物理机械防治、营养调控。虽然这些调控方法在一定程度上控制了番茄青枯病的发生, 但也带来了许多问题^[6]。陈志敏等对农药防治的研究表明农用硫酸链霉素、特效灭萎灵等防治效果较差^[7], Vanitha 等用拮抗

收稿日期: 2012-12-04

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KZCX2-YW-JC405);
中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-EW-B-6);
国家自然科学基金项目 (41201241)

作者简介: 刘肖肖 (1988—), 女, 江苏徐州人, 在读硕士研究生, 主要从事土壤生态方面的研究。E-mail: xliu@issas.ac.cn

* 通信作者: 董元华 E-mail: yhdong@issas.ac.cn

菌 *P. fluorescens* 处理番茄种子显著提高了种子萌发能力及幼苗活力,并且其植株的发病率显著降低^[8],同时,化学农药、生物防治容易带来二次污染。物理机械防治成本投入较大,营养调控由于不合理的肥料施用使得养分利用率低,元素失衡,环境污染,土壤生物退化,青枯病等土传病害更加严重。鉴于番茄青枯病的严重性及防治方法的局限性,研究有效的方法来防控青枯病成为迫切任务。

近年来,利用土壤改良剂提高土壤质量及修复退化的土壤成为国内外的研究热点,它具有促进土壤养分平衡、改善土壤微生物结构、提高农产品品质等诸多优点。土壤改良剂按原料来源分为天然改良剂、合成改良剂、天然-合成共聚物改良剂和生物改良剂^[9],已有研究将各类土壤改良剂应用于番茄青枯病的防治^[10-11]。Li 等^[12]在温室番茄试验中施用矿物粉,青枯病防效达到 89.99%。Saikia 等^[13]研究发现,Zn 和 Cu 矿物粉改良剂可以通过减少病原菌产生的茛菪酸来加强生防菌 *Pseudomonas fluorescens* 4-92 的活性,提高鹰嘴豆枯萎病的防治效果。矿物粉作为一种天然矿物,能够改善土壤结构,提高保水保肥能力,酵母残渣中富含氨基酸、糖类及其他生物活性物质,壳聚糖是天然提取高分子化合物,能够抑制土壤中的有害细菌,海藻残余物作为海藻肥能有效防治番茄的病虫害^[14]。但是,单一的土壤改良剂难以取得理想控制效果,本研究将不同类型的改良剂混合配施,筛选出防治番茄青枯病的土壤改良剂配方,并通过対土壤基本理化性质和微生物多样性进行分析,揭示土壤改良剂对防治番茄青枯病的作用机理。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌株 *Ralstonia solanacearum* ZJ3721,来自南京农业大学微生物实验室;供试番茄品种为上海合作 903;供试土壤采自苏州康绿农产品发展有限公司的

现代农业园区。

4 种供试土壤改良剂的组成:矿物粉是一种由天然矿物粉碎而产生的混合物,其成分(石英、黑云母、钾长石、斜长石、橄榄石)的质量比为 1:3:2:1:1;酵母残渣是提取酵母的残余物,来自张家口工厂;壳聚糖为分析纯;海藻残余物是来自连云港海藻酸钠工厂的海藻提取残余物。供试土壤及土壤改良剂使用前均过 2 mm 筛,其元素含量见表 1。

1.2 试验设计

采用土培试验进行番茄抗病配方筛选(塑料花盆直径 14 cm,高 12 cm),配方筛选分为两组,矿物粉和酵母残渣配方(RY)组,海藻残余物和壳聚糖配方(AC)组,选取两组中的最优配方。配方 RY 组:A,酵母残渣;B、C、D 矿物粉和酵母残渣比例分别为 85%:15%、90%:10%和 95%:5%;E,矿物粉。配方 AC 组:F,壳聚糖;G、H、I 海藻残余物和壳聚糖比例分别为 85%:15%、90%:10%和 95%:5%;J,海藻残余物。各配方的施用量均为 0.5%。设置一个不施改良剂的对照处理,试验共 11 个处理,每处理 12 株苗,设 3 次重复,共 396 盆。为满足作物生长需要,每千克供试土壤均施用 2.67 g 复合肥(N-P₂O₅-K₂O=15-5-15),同各处理土壤混合搅匀,用于番茄移栽后生长。

1.3 试验方法

取纯净的番茄种子,用 2%~2.5%的 NaClO 消毒,55 ℃浸种,在 25 ℃的培养箱中催芽 48 h,把已催芽的种子播到穴盘(规格 32 孔,育苗基质为蛭石),定期浇 Hoagland's Solution 营养液。幼苗长至二叶一心时,移栽到按照试验设计与配方拌匀的土壤中;待幼苗长至 5~6 片真叶时(移苗 20 d 后),利用 YMJ-A 叶面积测定仪,游标卡尺及直尺测定植物叶面积、茎粗、株高。然后,采用伤根灌注法接种青枯菌,将无菌水稀释好的浓度为 1×10⁸ cfu·mL⁻¹ 的菌液浇于根周围。

病原菌的培养与增殖方法,挑取清水悬浮保存的强致病青枯菌在 TTC 培养基上划线培养,28 ℃,48 h

表 1 供试土壤和改良剂主要元素含量

Table 1 The main elements contents of tested soil and soil amendments

样品	N/ g·kg ⁻¹	P/ g·kg ⁻¹	K/ g·kg ⁻¹	Ca/ g·kg ⁻¹	Mg/ g·kg ⁻¹	Fe/ g·kg ⁻¹	Mn/ μg·g ⁻¹	Cu/ μg·g ⁻¹	Zn/ μg·g ⁻¹	B/ μg·g ⁻¹	Mo/ μg·g ⁻¹	Ni/ μg·g ⁻¹	Na/ mg·g ⁻¹	Co/ μg·g ⁻¹	Al/ mg·g ⁻¹
土壤	1.22	0.79	14.2	6.1	5.2	33.6	477	35.1	92.3	64.7	0.47	31.0	8.3	12.5	63.9
矿物粉	0.19	0.30	80.5	13.1	27.6	15.5	817	11.5	186.0	13.0	0.78	4.0	10.2	2.9	69.2
酵母残渣	77.66	11.24	18.1	1.1	1.5	0.9	17	6.4	149.0	0.7	0.08	1.1	1.3	0.5	0.3
壳聚糖	65.88	0.19	0.2	4.4	2.0	1.6	51	60.2	11.4	0.7	0.12	6.1	0.4	0.9	0.8
海藻残余物	22.10	1.33	8.1	73.0	6.4	8.5	665	10.2	192	20.4	0.42	37.0	7.9	4.5	14.0

左右看到乳白色脓状物,挑取平板上的单菌落接种于装有4 mL的YGPA液体培养基的试管(15 mL)中,放入摇床,恒温28℃下振荡培养48 h,将试管中的青枯菌悬浮液接1 mL于200 mL YGPA液体培养基的锥形瓶中,28℃、180 r·min⁻¹,摇床振荡培养48 h。然后将扩大培养的菌液稀释镜检,菌液浓度确定为1×10⁸ cfu·mL⁻¹。

1.4 项目指标及测定方法

1.4.1 病情调查

接种病菌后,每日中午以株为单位调查番茄植株变化,记录发病情况30 d,根据发病株计算病情指数、防治效果。病情分级标准采用5级标准法^[15],病情指数和防效计算方法:

$$\text{病情指数} = \frac{\text{病级株数} \times \text{代表数值}}{\text{株数总和} \times \text{发病最重级的代表数值}} \times 100\%$$

$$\text{防效} = [1 - (\text{改良剂处理病情指数} / \text{CK病情指数})] \times 100\%$$

1.4.2 土壤及改良剂理化性质测定

试验结束后,用土钻于每盆重复均取等量土壤,混匀,装入一个无菌自封袋,分出一部分土壤贮藏于4℃冰箱,供微生物指标分析,其他土壤样品经风干后,剔除植物根茎等杂质,研磨分别过10、60目和100目筛,供试土壤pH和有机质等基本理化性质分析。pH采用玻璃电极法测定:称取过10目筛的风干土样10 g,加25 mL除CO₂的蒸馏水,搅拌1 min后静置30 min,用PHS-3C型酸度计进行测定。土壤有机质含量采用重铬酸钾氧化-外加加热法测定^[16]。土壤改良剂氮含量采用硒粉-硫酸铜-硫酸消化,半微量开氏法测定,而P、K、Ca、Mg、Fe、Mn、Mo、Ni、Na、Co、Al、Cu、Zn含量采用硝酸-高氯酸-氢氟酸消化,电感耦合等离子体质谱

(ICP-MS)测定;B采用深孔电极发射光谱法测定。

1.4.3 Biolog法测定微生物多样性和稀释涂布法青枯菌计数

Biolog法测定不同处理对土壤微生物多样性的影响按杨永华等^[17]和Sun等^[18]的方法。Biolog ECO微平板购自美国Biolog公司(Biolog, Hayward, USA)。本文采用培养48 h和72 h的数据,参照Garland等^[19]的公式,计算AWCD和微生物群落功能多样性指数。在SMSA培养基上^[20],采用稀释涂布平板法测定鲜土中青枯菌种群数量,该培养基中含有0.005%的2,3,5-氯化三苯基四氮唑,可与青枯菌发生生化反应,使之在这种培养基上呈现流动、平滑、带白色晕圈的红色菌落,该培养基可特异性区分青枯菌和其他细菌。

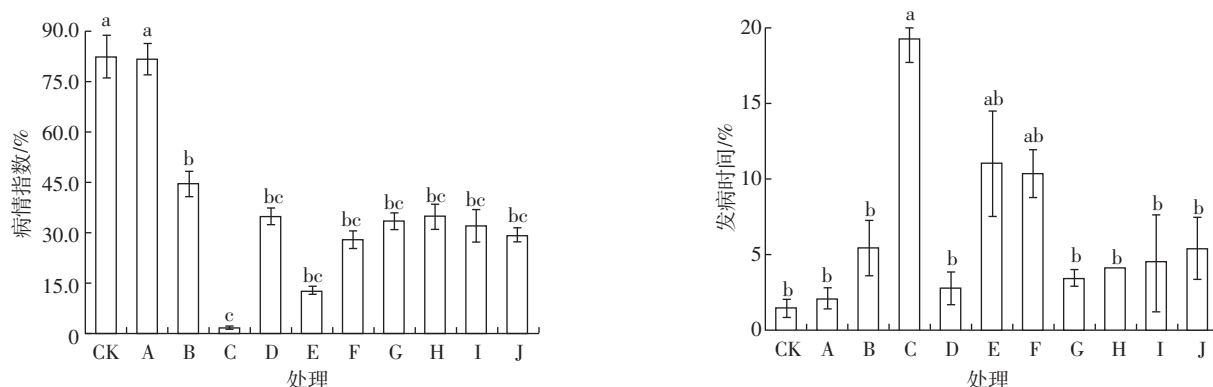
1.5 数据处理与统计分析

病情指数、植株形态指标、土壤理化性质、微生物多样性的描述性统计、显著性分析、相关性分析均采用SPSS 17.0软件来完成;其他数据分析在Excel 2010中进行。

2 结果与分析

2.1 土壤改良剂对番茄青枯病发病情况的影响

接种青枯菌1 d后即有个别处理的番茄植株出现典型的萎蔫症状,于第10 d达到发病高峰。从发病高峰期的病情指数(图1)可看出,不同配方的土壤改良剂对番茄青枯病的发病存在显著差异($P < 0.05$)。在CK的病情指数已达到82.6%的情况下,RY组的C处理(矿物粉:酵母残渣=90%:10%)平均病情指数仅为1.4%,防效达到98.3%。处理E防效次之,为84.9%。同时AC组的F处理(壳聚糖)的病情指数为27.8%,也较低,相对于CK防效为66.3%。



图中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。下同

图1 病情指数和发病时间

Figure 1 Disease severity and time of wilt attack of different treatments

从最早发病时间来看,ANOVA 检验结果表明各处理间差异显著($P=0.016$),RY 组的处理 C 显著高于其他各组,不施用改良剂的 CK 最先开始发病,接种病菌 1 d 后即出现叶片萎蔫的发病现象,而处理 C 平均 19 d 之后才出现发病症状,说明使用该配方可以延缓番茄青枯病的发作。处理 E 的防病效果次之,接种病菌 11 d 后叶片出现萎蔫下垂症状。AC 组的 F 接种病菌后 10 d 开始发病,使用配方 F 对青枯病也有一定的抑制作用。综合分析病情指数和最早发病时间认为,C 配方在抑制番茄青枯病上表现出明显优势。

2.2 土壤改良剂对番茄生长的影响

番茄植株形态学指标 ANOVA 结果(表 2)显示,

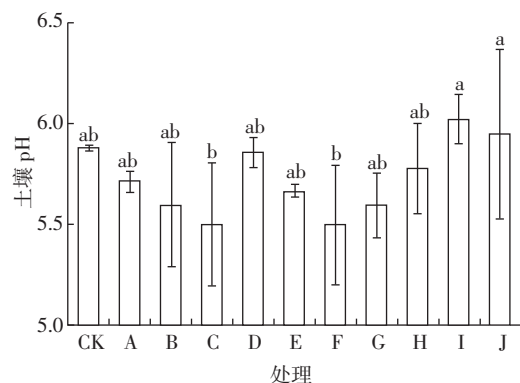
表 2 不同改良剂处理对番茄生长的影响

Table 2 Effect of different soil amendment treatments on plant growth

处理	叶面积/mm ²	茎粗/mm	株高/cm
RY 组			
CK	117.1±19.7bc	4.6±0.4b	13.9±1.1b
A	101.5±27.2c	4.9±1.1ab	14.1±3.4b
B	153.0±34.9ab	5.8±0.6a	16.2±1.2ab
C	158.6±5.1ab	5.8±0.2a	14.4±0.4b
D	134.8±25.7bc	5.1±0.2ab	13.0±1.4b
E	195.9±15.0a	5.9±0.3a	18.1±1.7a
AC 组			
CK	117.1±19.7b	4.6±0.4b	13.9±1.1c
F	202.7±17.4a	6.4±0.6a	22.5±1.5b
G	239.6±24.1a	6.5±0.3a	26.8±2.4a
H	264.3±45.9a	6.7±0.7a	24.9±1.2ab
I	264.5±53.5a	6.9±0.8a	25.7±0.2a
J	239.3±33.0a	6.9±0.7a	26.8±1.9a

注:同一列内标准差后小写字母不同表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

Note: Different lowercase letters affixed to the standard deviation in the same column mean significant difference at $P<0.05$.



RY 组的植株叶面积和茎粗组间分别有显著差异,其中叶面积组间有极显著差异($P=0.005$),株高无明显差异。Duncan 法进行多重比较结果显示,处理 C 的叶面积、茎粗显著大于 CK,株高也存在增加趋势。处理 E 的叶面积、茎粗、株高均为最大值,植株长势显著优于 CK。而 AC 组 ANOVA 检验结果显示,叶面积、茎粗和株高组间均有极显著差异, F 值分别为 7.65、6.40、30.44,以上指标 $P<0.01$ 。处理 F 的叶面积、茎粗、株高均显著高于 CK。上述两个配方的显著性分析结果表明土壤改良剂 C 与 F 可以较明显地提高番茄植株的长势,增大叶面积,植株更加粗壮,这些都将有助于降低植株的发病几率。

2.3 土壤改良剂对土壤基本理化性质的影响

图 2 显示土壤基本理化性质,方差分析结果表明:施用配方 C 和 F 的土壤 pH 显著低于 CK,pH 整体在 5.0~6.5 范围内。不同处理组间土壤有机质含量有极显著差异($P<0.01$),AC 组随着壳聚糖比例升高,有机质含量也随之升高,处理 F 的土壤 OM 含量最高,说明施用配方 F 显著提高了土壤有机质含量。

对番茄病情指数和最早发病时间与土壤基本理化性质进行 Pearson 相关性分析,结果显示,在一定土壤酸性范围内(pH 5.0~6.5),病情指数与 pH 值存在显著正相关($r=0.35, P<0.05$),而最早发病时间与土壤 pH 值存在显著负相关($r=-0.373, P<0.05$),说明在酸性条件下,随着 pH 的升高番茄植株青枯病病情加重,发病时间早。病情指数则随着土壤有机质的升高,有下降的趋势,但未达到显著水平($r=-0.24, P>0.05$)。

2.4 青枯菌种群数量与发病情况的关系

作为番茄青枯病侵染源的青枯菌,其土壤中种群数量在温室大棚番茄发病有重要影响。通过稀释涂布平板法测定青枯菌的种群数量(图 3),方差分析结果

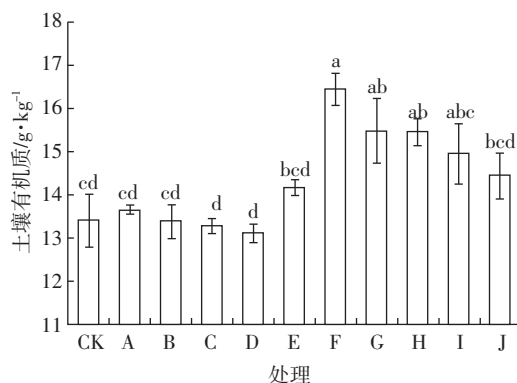


图 2 土壤 pH 和有机质含量

Figure 2 Soil pH and organic matter content

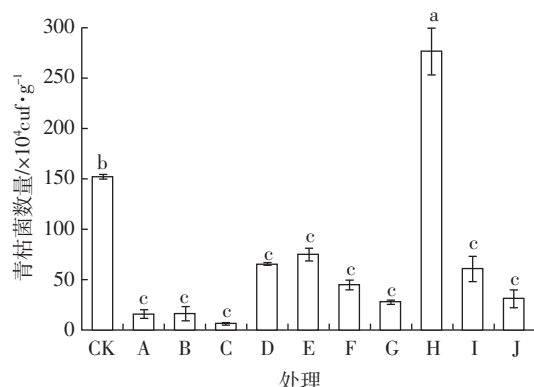


图 3 不同配方对土壤中青枯菌数量的影响

Figure 3 Effect of different treatments on the populations of *Ralstonia solanacearum* in soil

显示,处理 A、B、C、D、E、F、G、I 和 J 均可以明显地降低青枯菌的数量,与对照相比分别减少了 90.1%、89.7%、96.3%、57.2%、51.0%、70.9%、82.4%、60.6%和 80.0%。其中处理 C 达到了极显著水平($P<0.001$),并且该处理的番茄植株只发生了轻度感病。说明施用土壤改良剂配方 C 可以抑制病原菌的增长,降低植物的发病几率,同时起到抑菌和抑病的作用。处理 H 的土壤中病原菌数量高于 CK,但其防效为 58.0%,可能的原因是在发病过程中,土壤中病原菌数量只是衡量发病情况的一个方面,由于青枯病发病过程的复杂性,本研究需要借助其他一些更为有效的微生物指标来进一步分析。

2.5 土壤改良剂对土壤微生物群落功能多样性的影响

采用 Biolog ECO 板分别研究了施用 RY 和 AC 两组各配方的土壤微生物群落代谢功能多样性,平均每孔颜色变化率(AWCD)反映土壤微生物碳源利用能力(表 3)。结果发现,在培养 48 h 后,施用配方 A、B、C、D、E、F、G、H、I、J 的土壤 AWCD 值均比 CK 有显著提高,其中处理 C 的 AWCD 值最大,并且培养 48 h 和 72 h 都显著高于 CK,即施用配方 C 土壤微生物利用碳源能力及微生物活性显著提高。这说明处理 C 和 CK 两种土壤微生物群落的组成有所不同,施用矿物粉和酵母残渣的土壤微生物群落所含的能利用 Biolog ECO 平板上碳源的微生物要远大于发病严重的 CK。

表 3 列出了培养 72 h 施用不同土壤改良剂配方的土壤微生物代谢功能多样性指数,RY 组不同处理 Shannon 和 Simpson 指数变化趋势相同,大小顺序为 C>E>D>CK>B>A,处理 C 显著高于 CK,说明施用配方 C 显著提高了土壤微生物物种丰富度,而处理 A 略低于 CK,可能由于大量的酵母残渣中含有酵母活菌,影响了土壤中微生物种群分布。McIntosh 指数为 D>E>C>A>CK>B。

AC 组的 Shannon 和 Simpson 指数同样呈现相同的变化趋势:F>J>I>CK>H>G,F 和 J 显著高于 CK,可能由于壳聚糖的施入使土壤中的病原菌和有害菌类得到了抑制,有效提高了土壤的物种多样性。McIntosh 指数变化规律不同:I>J>F>CK>G>H,F 和 CK 没有显著差异。

表 3 不同土壤改良剂处理的 AWCD 值和微生物群落多样性指数

Table 3 AWCD and functional diversity indexes of soil microbial communities of treatments

处理	48 h		72 h		
	AWCD	AWCD	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数
RY 组					
CK	0.275±0.013c	0.470±0.028b	2.980±0.036b	0.944±0.002ab	3.460±0.149ab
A	0.341±0.005b	0.505±0.008ab	2.901±0.094b	0.935±0.006b	3.590±0.025ab
B	0.345±0.014b	0.562±0.042a	2.972±0.118b	0.939±0.010b	3.350±0.436b
C	0.408±0.005a	0.522±0.055ab	3.151±0.055a	0.951±0.004a	3.462±0.318ab
D	0.352±0.021b	0.544±0.008a	3.127±0.090a	0.950±0.006a	4.175±0.683a
E	0.342±0.008b	0.503±0.017ab	3.140±0.025a	0.951±0.002a	4.098±0.278a
AC 组					
CK	0.275±0.013d	0.470±0.028b	2.980±0.036b	0.944±0.002ab	3.460±0.149ab
F	0.334±0.014bc	0.467±0.023b	3.151±0.055a	0.951±0.004a	3.462±0.318ab
G	0.340±0.011 b	0.448±0.017b	2.901±0.094b	0.935±0.006b	3.590±0.025ab
H	0.384±0.005a	0.456±0.000b	2.972±0.118b	0.939±0.010b	3.350±0.436b
I	0.392±0.007a	0.488±0.027b	3.127±0.090a	0.950±0.006a	4.175±0.683a
J	0.305±0.038cd	0.559±0.031a	3.140±0.025a	0.951±0.002a	4.098±0.278a

3 讨论

不同类型的土壤改良剂的混合配施可以有效防治番茄青枯病。施用土壤改良剂配方 C 显著地降低了番茄青枯病的发生,并且可以推迟发病时间,对番茄青枯病的防治效果最佳。可能与矿物粉和酵母残渣能够增加番茄植株的养分供应、提高植株的长势和整体抗病能力有关。施用配方 F 也存在较明显的效果,已有研究表明壳聚糖具有较为广谱的抗菌性能,离体试验表明,壳聚糖能抑制一些真菌、细菌和病毒的生长繁殖,但抑制效果因所用壳聚糖分子量及其理化性质的不同以及供试病原菌种类的不同而异^[21]。壳聚糖还能够诱导植物的多种抗病反映,例如几丁质酶的积累在体外抑制病原菌的生长^[22];病原物的侵染诱导植物几丁质酶活性升高和产生新的几丁质酶同工酶,这些高活性的几丁质酶或特异性的同工酶提高了植物的抗病性^[23]。

土壤改良剂能够改善土壤理化性状和土壤养分状况,并对土壤微生物产生积极影响,从而提高退化土壤的生产力。本研究的不同配方对土壤基本理化性质的影响有所不同,各处理土壤 pH 变化范围为 5.0~6.5,优选配方 C 和 F 的 pH 显著低于 CK,故较低 pH 能够减轻发病程度(图 2),从而有效减少经济损失。在此酸性范围内,土壤 pH 越高病害越严重,有研究表明番茄青枯病发病的最佳 pH 为 6.4^[24],与本研究的结论类似。土壤有机质是土壤质量的重要组成部分,因为它直接或间接影响许多物理化学和生物特性,因此,在农业实践中常用有机堆肥土壤改良剂改善土壤质量,同时达到有效利用有机废物的目的^[25]。施用生物有机肥可以显著降低青枯病的发生,且表现出显著的促生长效果,增加土壤中细菌和放线菌数量,降低青枯菌数量^[26]。肖相政等施用生物有机肥进行番茄青枯病的防治研究也得到了一致的结论^[27]。但由于本研究的几种土壤改良剂养分含量较低,没能显著改善土壤有机质含量(图 2),很可能掩盖了土壤有机质这一重要指标对青枯病发病的影响。

从试验结果可以看出,土壤改良剂影响土壤中青枯菌的数量,本文中改良剂除 H 外均可抑制青枯病原菌的存活、减少其数量(图 3),有利于达到防治青枯病的目的。土壤中病原菌的数量是番茄植株发病的必要条件,但这并不是绝对的,能否导致病害的发生还受其他因素的影响,应进一步从微生物群落结构功能多样性的角度研究其抑病机理并加以利用,以达

到有效防治青枯病的目的。改良剂增加了土壤微生物群落对碳源的利用能力、丰富度指数和 Shannon 多样性指数,各种多样性指数可以反映微生物群落代谢功能的多样性,土壤微生物多样性的提高有利于抑制病原菌^[28]。酵母残渣和壳聚糖使土壤中 N 含量增加,从而达到了 C 和 N 平衡,这种平衡有利于微生物生长^[29],从而提高了物种丰富度。施用配方 C 显著提高了土壤微生物物种丰富度,有效改善了土壤微生物生态结构,促进了有益微生物的生长,提高了土壤微生物多样性,有利于减轻土壤中病原菌带来的危害。

4 结论

施用 0.5% 的土壤改良剂配方 C(矿物粉:酵母残渣=90%:10%) 和 F(壳聚糖)显著地降低了番茄青枯病的发生,延缓发病。施用海藻残余物和壳聚糖可以促进番茄植株的长势。在一定土壤酸性范围内(pH5.0~6.5),病情指数与 pH 值显著正相关,发病时间与土壤 pH 值显著负相关。施用矿物粉和酵母残渣抑制病原菌的增长,降低植物的发病几率,并且明显提高土壤微生物对碳源利用能力,调控土壤微生物群落结构,增强土壤微生物生态系统的稳定性,达到防病效果。

参考文献:

- [1] 肖 烨,洪艳云,易图永,等. 番茄青枯病生物防治研究进展[J]. 植物保护, 2007, 33(2):15-20.
XIAO Ye, HONG Yan-yun, YI Tu-yong, et al. Advances in biological control of tomato bacterial wilt[J]. *Plant Protection*, 2007, 33(2):15-20.
- [2] Hikichi Y, Yoshimochi T, Tsujimoto S, et al. Global regulation of pathogenicity mechanism of *Ralstonia solanacearum*[J]. *Plant Biotechnol*, 2007, 24:149-154.
- [3] Poueymiro M, Genin S. Secreted proteins from *Ralstonia solanacearum*: A hundred tricks to kill a plant[J]. *Curr Op Microbial*, 2009, 12:44-52.
- [4] 陈庆河,翁启勇,胡方平. 无致病力青枯菌株对番茄青枯病的防治效果[J]. 中国生物防治, 2004, 20(1):42-44.
CHEN Qing-he, WENG Qi-yong, HU Fang-ping. Effects of avirulent strains of *Ralstonia solanacearum* on tomato bacterial wilt[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2004, 20(1):42-44.
- [5] Hacısalihoglu G, Ji P, Longo L M, et al. Bacterial wilt induced changes in nutrient distribution and biomass and the effect of acibenzolar-S-methyl on bacterial wilt in tomato[J]. *Crop Protection*, 2007, 26:978-982.
- [6] Toyoda H, Hashimoto H, Utsumi R, et al. Detoxification of fusaric acid by a fusaric acid-resistant mutant of *Pseudomonas solanacearum* and its application to biological control of *Fusarium* wilt of tomato[J]. *Phytopathology*, 1988, 10:1307-1311.
- [7] 陈志敏,彭业敏,张晓阳,等. 烟草青枯病田间防治药剂的筛选[J]. 湖南农业科学, 2012, 7:79-81.

- CHEN Zhi-min, PENG Ye-min, ZHANG Xiao-yang, et al. Screening of control medicaments against tobacco bacterial wilt in the field[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2012, 7: 79-81.
- [8] Vanitha S C, Niranjana S R, Mortensen C N, et al. Bacterial wilt of tomato in Karnataka and its management by *Pseudomonas fluorescens*[J]. *Bio Control*, 2009, 54: 685-695.
- [9] 陈义群, 董元华. 土壤改良剂的研究与应用进展[J]. 生态环境, 2008, 17(3): 1282-1289.
- CHEN Yi-qun, DONG Yuan-hua. Progress of research and utilization of soil amendments[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(3): 1282-1289.
- [10] Guo Jian-hua, Qi Hong-ying, Guo Ya-hui, et al. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Biological Control*, 2004, 29: 66-72.
- [11] Wei Zhong, Yang Xing-ming, Yin Shi-xue, et al. Efficacy of bacillus-fortified organic fertiliser in controlling bacterial wilt of tomato in the field[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, 48: 152-159.
- [12] Li Jian-gang, Dong Yuan-hua. Effect of a rock dust amendment on disease severity of tomato bacterial wilt[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013, 103: 11-22.
- [13] Saikia R, Varghese S, Singh B P, et al. Influence of mineral amendment on disease suppressive activity of *Pseudomonas fluorescens* to *Fusarium* wilt of chickpea[J]. *Microbiological Research*, 2009, 164: 365-373.
- [14] Featonby-Smith B C, Van Staden J. The effect of seaweed concentrate on the growth of tomato plants in nematode-infested soil[J]. *Scientia Horticulturae-Amsterdam*, 1983, 20: 137-146.
- [15] 方中达. 植物研究方法[M]. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 8-18.
- FANG Zhong-da. Research method of phytopathology[M]. 3rd version. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1998: 8-18.
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- LU Ru-kun. Analytical methods of soil and agronomic chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999.
- [17] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(2): 23-25.
- YANG Yong-hua, YAO Jian, HUA Xiao-mei. Application of RAPD in microbial biodiversity identification[J]. *Journal of Microbiology*, 2000, 20(2): 23-25.
- [18] Sun Y H, Yang Z H, Zhao J J, et al. Functional diversity of microbial communities in sludge-amended soils[J]. *Physics Procedia*, 2012, 33: 726-731.
- [19] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57: 2351-2359.
- [20] French E R, Gutarra L, Aley P, et al. Culture media for *Pseudomonas solanacearum* isolation, identification and maintenance[J]. *Fitopatologia*, 1995, 30: 126-130.
- [21] 廖春燕, 马国瑞, 陈美慈, 等. 不同分子量壳聚糖对几种植物病原真菌的拮抗作用[J]. 浙江农业学报, 2001, 13(3): 172-175.
- LIAO Chun-yan, MA Guo-rui, CHEN Mei-ci, et al. Inhibition of different molecular weight chitosan to the growth of several phytopathogenic fungi[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2001, 13(3): 172-175.
- [22] Hirano S, Nagao N. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens[J]. *Agric Biol Chem*, 1989, 53(11): 3065-3066.
- [23] Vasyukova N I, Zinov'Eva S V, Il'Inskaya L I, et al. Modulation of plant resistance to diseases by water-soluble chitosan[J]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2001, 37(1): 103-109.
- [24] 王震. 水培番茄青枯病发生条件及防治研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- WANG Zhen. Studies on conditions and control of tomato bacterial wilt in hydroponics[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008.
- [25] Pérez-Piqueres A, Edel-Hermann V, Alabouvette C, et al. Response of soil microbial communities to compost amendments[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38: 460-470.
- [26] 袁英英, 李敏清, 胡伟, 等. 生物有机肥对番茄青枯病的防效及对土壤微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(7): 1344-1350.
- YUAN Ying-ying, LI Min-qing, HU Wei, et al. Effect of biological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microorganism[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(7): 1344-1350.
- [27] 肖相政, 刘可星, 廖宗文. 生物有机肥对番茄青枯病的防效研究及机理初探[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(11): 2368-2373.
- XIAO Xiang-zheng, LIU Ke-xing, LIAO Zong-wen. Disease-control effect and mechanism research of biological organic fertilizer on tomato bacterial wilt[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(11): 2368-2373.
- [28] 胡可, 李华兴, 卢维盛, 等. 生物有机肥对土壤微生物活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(2): 303-306.
- HU Ke, LI Hua-xing, LU Wei-sheng, et al. Effect of microbial organic fertilizer application on soil microbial activity[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(2): 303-306.
- [29] Zhang Nai-li, Wang Shi-qiang, Li Ling-hao, et al. Impacts of urea N addition on soil microbial community in a semi-arid temperate steppe in Northern China[J]. *Plant Soil*, 2008, 311: 19-28.