

不同堆肥对番茄青枯病的防病效果及土壤微生物群落功能多样性的影响

谭兆赞, 徐广美, 刘可星, 廖宗文

(华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要:在温室盆栽条件下,研究了不同接种方式和腐熟度的堆肥对番茄生长和防病的影响,并应用 Biolog 方法研究了不同堆肥对土壤微生物群落的调节作用. 结果表明,堆肥能明显提高番茄的株高和生物量,减轻番茄青枯病的发生,且2次接种的堆肥较1次接种和不接种的堆肥防效好,而不同腐熟时间的堆肥则差异不显著. 腐熟30 d堆肥能在前期较早较快地提高土壤微生物的平均颜色利用率(AWCD)和多样性指数(Shannon、Simpson、McIntosh),而腐熟20 d堆肥起效较慢,但在中后期能较持久地提高. 与1次接种和不接种堆肥相比,2次接种堆肥的AWCD值和多样性指数提高得较快.

关键词:接种堆肥; 番茄青枯病; 功能多样性; Biolog

中图分类号:S154.36

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2009)02-0010-05

Effects of Different Composts on Control of Tomato Bacterial Wilt and Soil Microbial Functional Diversity

TAN Zhao-zan, XU Guang-mei, LIU Ke-xing, LIAO Zong-wen

(College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A pot experiment was carried out to study the effects of different composts with different maturities and inoculation on tomato growth and soilborne disease suppression in the greenhouse. The regulating functions of different composts on soil microbial community were studied by Biolog method. The results showed that all composts could increase the plant height and biomass obviously, and the disease severity was reduced. The effect of two-time inoculated compost on controlling bacterial wilt was better than those of one-time inoculated and non-inoculated composts. The effects of the composts with different composting time were not significantly different. Average well color development (AWCD) and soil microbial functional diversity indices (Shannon index, Simpson index and McIntosh index) of 30-day composts were increased at early stage, while those of 20-day composts were increased at middle and late stages. Compared to one-time inoculated and non-inoculated composts, two-time inoculated composts could increase AWCD and soil microbial diversity indices more rapidly.

Key words: inoculated compost; bacterial wilt of tomato; functional diversity; Biolog

良好的土壤生态系统是农业健康、持续发展的基础,人们要发展各种有效的农业管理措施来保护土壤和环境资源. 施用有机肥来改善土壤生态环境,其营养和维持地力的作用受到普遍重视与研究^[1].

堆肥不仅是一种有机肥,更是一个易发挥种群优势的微生物资源库^[2]. 作为土壤微生物的营养源和资源库,它能够调控土壤微生物群落的代谢功能和结构,改善土壤质量^[3]. 近年来,堆肥的防病作用及其

收稿日期:2008-04-13

作者简介:谭兆赞(1980—),男,硕士;通讯作者:廖宗文(1947—),男,教授,E-mail:zwliao@sohu.com

基金项目:农业部“948”项目(2006-G62);广东省科技计划项目(2008B021000039);广州市科技计划项目(2007Z2-E0051)

机理备受关注. Stone 等^[4]报道,在黄瓜移植前 30 d 施用废纸制作的堆肥可减轻黄瓜枯萎病与立枯病引发的猝倒等症状的发生. Cinthia^[5]采用两阶段堆肥法生产的含几丁质堆肥可显著降低 2 种腐霉属病原菌引起的黄瓜猝倒病的发病率. 蔡燕飞等^[6]研究表明,施用有机肥可以显著降低番茄青枯病发病率,防病机制是施用有机物提高了土壤微生物群落多样性. Fliebach 等^[7]也发现长期施用有机物料的土壤微生物群落代谢多样性(Biolog 方法)显著高于常规施用化肥的土壤. Tuitert 等^[8]施用家畜粪便腐熟物来防治番茄青枯病后发现,腐熟度是影响防治效果的一个重要因素. 孔维栋等也报道有机物料腐熟度是影响土壤微生物群落代谢特征的主要因素^[3].

接种是提高堆肥效率的主要方法之一. 菌种的配制及菌种的接入方式是影响堆肥肥效的重要因素^[9]. 不同腐熟度和接种方式的堆肥,其营养成分和微生物群落结构不同,对土壤微生物群落的调控效果也有所不同. 本文应用自选的高效堆肥菌种,堆肥时间分 20 和 30 d,在堆肥过程中接种 1 次和 2 次,得到不同腐熟度和不同接种方式的堆肥,通过盆栽试验和 Biolog 方法,研究这些堆肥对土壤微生物生态的调控和番茄青枯病防病效果,为提高堆肥质量,改善土壤生态提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 材料

供试番茄品种为红宝石,是青枯病易感品种. 供试病土是华南农业大学园艺学院番茄青枯病试验地的连作菜园土(有机质 34.6 g/kg,全氮 2.1 g/kg,pH 5.6,碱解氮 104.6 mg/kg,速效磷为 92.7 mg/kg,速效钾为 377.2 mg/kg). 新鲜土样过 4 mm 筛.

供试有机肥是以鸡粪和园林垃圾为原料(C/N 约为 30),分不接种、堆肥前 1 次接种、堆肥前和堆肥 14 d 2 次接种 3 个处理,堆制 20、30 d 而成,其基本性质见表 1.

表 1 供试堆肥养分含量
Tab.1 Nutrient content of tested composts

编号	堆肥种类	w/(g·kg ⁻¹)			
		有机质	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
堆肥 1	20 d 对照堆肥	449.0	23.5	12.1	25.7
堆肥 2	20 d 1 次接种堆肥	398.7	25.6	18.9	26.7
堆肥 3	20 d 2 次接种堆肥	370.3	27.1	19.2	27.3
堆肥 4	30 d 对照堆肥	337.3	18.6	19.4	22.3
堆肥 5	30 d 1 次接种堆肥	269.8	21.5	19.6	24.4
堆肥 6	30 d 2 次接种堆肥	244.3	23.0	23.6	27.0

1.2 试验设计

试验设 7 个处理,各处理的有机肥种类见表 2. 对照(CK)施 6% 的无机肥作基肥,移栽 15、33 d 后分别追施 20% 的无机肥. 各处理将作为基肥的化学肥料(40%)及有机肥(36%)与土壤混匀,倒入瓦盆中,每天喷水保持土壤湿度在 30%~50% 之间,让有机肥中的菌种活化 1 周后移栽已长 4 叶的番茄苗. 每处理设 5 个重复. 每盆 5 kg 土壤. 每盆种 2 株番茄,共 10 株番茄. 移栽 15、33 d 后分别追施 12% 的有机肥. 番茄生长期为 75 d. 所有处理氮(N)、磷(P₂O₅)、钾(K₂O)的施入量相等,分别为 120、80、100 mg/kg. 不足部分由无机肥补足.

表 2 试验设计
Tab.2 Experiment treatments

处理	基肥	追肥	
		移栽后 15 d	移栽后 33 d
CK	无机肥(60%)	无机肥(20%)	无机肥(20%)
T1	无机肥(40%) 堆肥 1(36%)	堆肥 1(12%)	堆肥 1(12%)
T2	无机肥(40%) 堆肥 2(36%)	堆肥 2(12%)	堆肥 2(12%)
T3	无机肥(40%) 堆肥 3(36%)	堆肥 3(12%)	堆肥 3(12%)
T4	无机肥(40%) 堆肥 4(36%)	堆肥 4(12%)	堆肥 4(12%)
T5	无机肥(40%) 堆肥 5(36%)	堆肥 5(12%)	堆肥 5(12%)
T6	无机肥(40%) 堆肥 6(36%)	堆肥 6(12%)	堆肥 6(12%)

1.3 Biolog 测定及数据处理方法

Biolog ECO 微平板购自美国 Biolog 公司(Biolog, Hayward, USA),酶标仪为瑞士 TECAN 公司生产的 F039300 型酶标仪.

Biolog 测定按 Garland 等^[10]和杨永华等^[11]的方法. 采用培养 72 h 的数据,参照 Choi 等^[12]的公式,计算 AWCD 和微生物群落功能多样性指数. 碳源分为 6 类,进行主成分分析(Principal component analysis,PCA)^[13]. 统计软件应用 SAS Release 8.1.

2 结果与分析

2.1 不同堆肥的营养功能和对番茄青枯病的防效

表 3 的结果表明,施用堆肥处理的番茄株高和生物量均明显高于施用化肥的对照. 其中,以 2 次接

表 3 不同处理番茄株高和生物量¹⁾
Tab.3 Plant height and biomass of tomato of different treatments

项目	CK	T1	T2	T3	T4	T5	T6
株高/cm	74.3d	80.7c	82.4bc	85.7a	80.1c	83.6ab	86.0a
生物量/g	302.2g	347.2f	401.6d	447.9a	382.7e	421.9c	437.5b

1) 同行数据后带不同字母者表示达 5% 差异显著水平 (Duncan's 法)

种的堆肥(T6和T3)最优,1次接种的堆肥(T5和T2)次之,不接种的普通堆肥(T4和T1)第3;不同堆肥腐熟度的处理差异不明显.说明堆肥的接种方式是影响番茄株高和生物量的主要因素,接种堆肥处理的营养功能明显优于普通堆肥和化肥处理.

由表4的结果可知,施用化肥的CK最早发病,在移栽后35 d已经发现发病,移栽48 d时发现8株病株,发病情况最为严重,说明病土确实潜伏着大量青枯菌.施用堆肥的处理能使番茄青枯病发病延缓4~20 d,且病株数减少5~7株,能较明显地减轻发病情况.其中2次接种的堆肥(T3、T6),能最大程度延缓发病时间,且防病效果明显;而1次接种腐熟30 d的堆肥(T5)也能较好地控制防病情况,但发病较T3和T6早.说明堆肥的接种方式是影响堆肥防病效果的主要因素,2次接种的堆肥较1次接种和不接种的堆肥防效好.表4结果也表明,不同腐熟时间的堆肥防效差异不显著.

表4 各处理番茄青枯病发病情况
Tab. 4 Occurrence of tomato bacterial wilt of different treatments

处理	移栽后不同时间的发病株数						
	35 d	39 d	43 d	48 d	55 d	65 d	75 d
CK	1	6	7	8	8	8	8
T1	0	1	1	3	3	3	3
T2	0	0	1	2	3	3	3
T3	0	0	0	0	1	1	1
T4	0	1	1	1	3	3	3
T5	0	0	0	1	1	1	1
T6	0	0	0	0	1	2	2

2.2 不同堆肥对土壤微生物群落功能多样性的影响

2.2.1 Biolog ECO 微平板平均每孔颜色变化率的变化 表5的结果表明,在番茄的整个生长过程中,

表5 番茄生长期土壤微生物群落每孔颜色变化率(AWCD)¹⁾
Tab. 5 AWCD variation of soil microbial community during tomato growth

处理	移栽后不同时间的 AWCD		
	15 d (前期)	33 d (中期)	55 d (后期)
CK	1.054 ± 0.012f	1.301 ± 0.003c	1.365 ± 0.010e
T1	1.131 ± 0.011e	1.261 ± 0.073c	1.394 ± 0.022d
T2	1.207 ± 0.020d	1.399 ± 0.041b	1.405 ± 0.004d
T3	1.374 ± 0.016b	1.499 ± 0.009a	1.741 ± 0.018b
T4	1.211 ± 0.019d	1.345 ± 0.010bc	1.669 ± 0.005c
T5	1.338 ± 0.011c	1.385 ± 0.005bc	1.715 ± 0.021b
T6	1.449 ± 0.009a	1.559 ± 0.003a	1.819 ± 0.004a

1) 表中数值均为培养72 h的平均值±标准误(n=5);同列数值后字母不同表示达5%差异显著水平(Duncan's法)

各处理的平均每孔颜色变化率(AWCD)均有增加的趋势,且施堆肥的各处理AWCD均高于CK,前期和后期差异显著,中期T3和T6与CK的差异显著.说明施入堆肥可不同程度地提高AWCD,且2次接种的堆肥尤为明显.

在整个生长过程中,2次接种堆肥(T3和T6)的AWCD均高于1次接种堆肥(T2和T5)和不接种堆肥(T1和T4),差异达显著;且同为2次接种,腐熟堆肥(T6)的AWCD较半腐熟堆肥高(T3),前期和后期差异显著;1次接种的堆肥和不接种堆肥也表现相似的规律,即腐熟处理的AWCD高于半腐熟处理.

2.2.2 土壤微生物群落功能多样性指数变化 Shannon指数受群落物种丰富度影响较大,Simpson指数较多反映了群落中最常见的物种^[5]. McIntosh指数则是群落物种均匀性的度量^[14]. 本文选用的这3种多样性指数,从不同侧面反映土壤微生物群落功能多样性. 结果见图1.

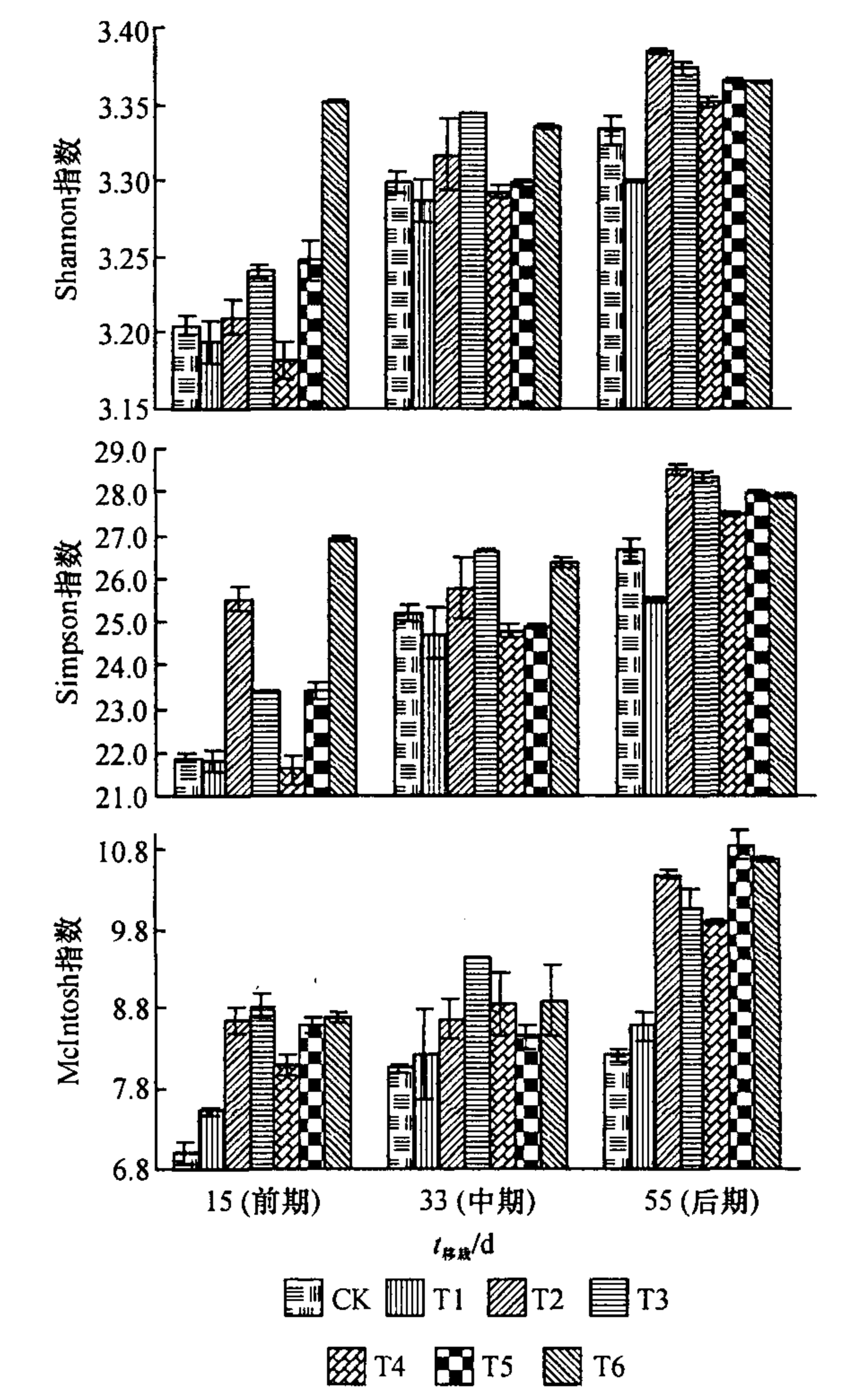


图1 各处理土壤微生物群落功能多样性指数变化
Fig. 1 Variation of functional diversity indices of soil microbial communities of different treatments

在番茄的前期和中期,接种堆肥的 Shannon 和 McIntosh 多样性指数均高于普通堆肥和 CK,且2次接种堆肥高于1次接种堆肥。而到了后期,1次接种处理的 Shannon 和 McIntosh 多样性指数才逼近或超过2次接种处理。前期 Simpson 多样性指数各处理的规律不明显;到中期,2次接种堆肥高于1次接种。1次接种处理与2次接种处理持平。说明接种堆肥施入土壤后,能提高土壤微生物群落物种的丰富度和均匀度,作为土壤微生物群落中常见物种出现的几率在中期时已高于其他处理,且2次接种的多样性指数上升较快,能较早较快调控土壤微生物群落,能更早更快在土壤中形成有利于抑制青枯病病原菌的群落结构,防病效果较好。

比较不同腐熟程度的堆肥处理发现,在前期,腐熟堆肥处理的3种多样性指数均比对应的半腐熟处理高,而到中期和后期,除后期的 McIntosh 多样性指数外,半腐熟堆肥处理的其他多样性指数反而较对应腐熟堆肥处理高。这些指数变化反映了半腐熟堆肥在土壤中有一后熟过程,在较长一段时间内影响土壤微生物群落的结构,可较持久地提高土壤微生物群落功能多样性指数,但起效较慢;而腐熟堆肥处理能在前期较快地被土壤中的微生物利用,微生物数量和种类较快地增加,故较快地提高了多样性指数。

2.2.3 土壤微生物群落功能主成分分析 通过主成分分析(PCA)可以在降维后的主元向量空间中,用点的位置直观地反映出不同土壤微生物群落功能多样性变化。结果(图2)发现,在主成分分析向量坐标图里,番茄生长过程中,各处理点的动态分布与发病动态基本一致。

在前、中、后期的 PCA 图中点的分布可按防病效果分为3个功能群落(实线圈),防病效果最好的 T3、T5 和 T6 的土壤微生物群落功能较相似,防病效果中等的 T1、T2 和 T4 的土壤微生物群落功能也较相似,而发病情况较严重的 CK 则又属于另一种土壤微生物群落功能。在中期防效中等的 T2 和防效较差的 CK 较接近,这是由于 PCA 图中点的分布反映的是土壤微生物群落的动态变化过程,而 T2 和 CK 此时处于一个较接近的位置,在前期和后期,则是明显分离的。

中期还可以按堆肥接种方式的不同,分为2次接种、1次接种、不接种和化肥所诱导的4个不同土壤微生物功能群落(虚线圈)。可见,不同接种方式的堆肥,施入土壤后,其诱导的土壤微生物群落功能多样性也不同;同种接种方式的堆肥其土壤微生物群落功能较相似。

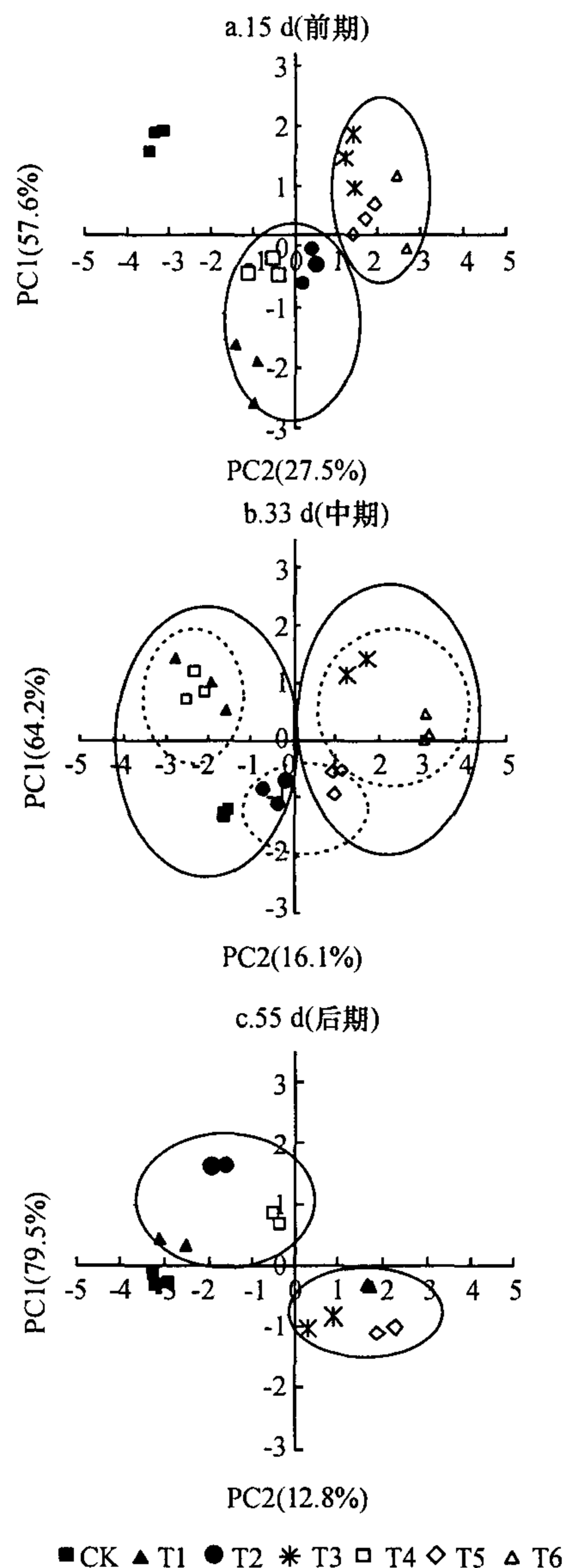


图2 不同处理的土壤微生物群落功能主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis for soil microbial communities of different treatments

3 讨论

3.1 不同腐熟度和接种方式堆肥对土壤生态调控的比较

堆肥腐熟度是影响土壤微生物群落代谢特征的主要因素^[3]。本研究发现腐熟堆肥能在前期较早较快的提高 AWCD 和各多样性指数,而半腐熟堆肥的后熟过程则能持久地调控土壤微生态,由于肥料的性质不同,两者通过不同的途径实现对土壤生态的调控但也同样显示较好防效。

菌种的接入方式是影响堆肥肥效的重要因素。一般是在堆肥前期或高温期过后,1次接入单一菌种或简单的复合菌种,以达到快速腐熟的目的^[9]。本试验堆肥的菌种经筛选优化组合后(菌种筛选另文

报道),1次和分2次接入制成不同的堆肥.结果表明,接种堆肥的AWCD及各土壤微生物群落功能多样性指数均高于普通堆肥和化肥,其对土壤的生态调控较早也较持久;且按堆肥温度的变化,2次分批接种的堆肥,效果更为明显.

3.2 堆肥对番茄青枯病的生态调控防病效果

植物细菌性青枯病 *Ralstonia solanacearum* 是一种严重的土传病害,严重危害热带、亚热带、温带经济作物^[15],目前尚无理想的药物防治方法.生物防治一直是解决土传病害的重点研究内容.目前已有不少学者从土壤微生物群落角度研究了施用有机肥防治番茄青枯病的效果^[6,8].本试验结果也表明,堆肥施入土壤后,可不同程度地延缓番茄青枯病的发病时间并减轻发病情况,其防病效果与堆肥的腐熟度和接种方式密切相关.

对番茄青枯病的生态防治,前期是关键^[16],如果前期土壤生态调节得当,则防病效果好.本试验结果表明,土壤微生物在 Biolog ECO 板上反应后的AWCD和各群落功能多样性指数特别是 Shannon 多样性指数,与防病效果有较好的一致性,即这些指数提高得越早、越持久,防效越好.因此,为实现堆肥对土壤生态的及时调控,提高对土传病害生物防治的效果,应深入研究堆肥的工艺,包括堆肥时间、菌种接入方式等.

通过施有机肥提高土壤微生物多样性,从根本上提高土壤健康,在微生物生态水平上抑制土传病害,这是一项新颖的绿色防病技术途径,值得深入研究.

参考文献:

[1] 刘更另. 中国有机肥[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1991: 127-132.

[2] 马艳, 常志州, 黄红英, 等. 堆肥中蔬菜土传病害生防菌的筛选及评价[J]. 江苏农业学报, 2005, 21(3): 243-244.

[3] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文. 不同腐熟程度有机物料对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(9): 2291-2296.

[4] STONE A G. Characterization of compost composition and its relationship to the suppression of *Pythium* root rot of cucumber[D]. Ohio: College of Plant Pathology, The Ohio State University, 1997.

[5] CINTHIA L, PHILIPPE L, NATHALIE C, et al. Effect of chitin wast-based composts produced by two-phase composting on two oomycete plant pathogens[J]. Plant and Soil, 2001, 235: 27-34.

[6] 蔡燕飞, 廖宗文, 董春, 等. 番茄青枯病的土壤微生态防治研究[J]. 农业环境保护, 2002, 21(5): 417-420.

[7] FLIEBBACH A, EYHORN F, MADER P, et al. "DOK" long-term farming system trial: microbial biomass, activity and diversity affected the decomposition of plant residues[M] // REES R M, CAMPELL B C. Sustainable Management of Organic Matter. Wallingford: CABI Publishing, 2001: 363-369.

[8] TUITERT G, SZCZECH M, BOLLEN G J. Suppression of *rhizoctonia solani* in the potting mixtures amended with compost made from organic household waste[J]. Phytopathology, 1998, 88: 764-773.

[9] 席北斗, 孟伟, 刘鸿亮, 等. 三阶段控温堆肥过程中接种复合微生物菌群的变化规律研究[J]. 环境科学, 2003, 24(2): 152-155.

[10] GARLAND J L, MILLS A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities of on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57: 2351-2359.

[11] 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]. 生态学杂志, 2000, 20(2): 23-25.

[12] CHOI K H, DOBBS F C. Comparison of two kinds of biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities[J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, 36(3): 203-213.

[13] JULIET P M, LYNNE B, PETER F R. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles-a critique[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2002, 42: 1-14.

[14] ATLAS R M. Diversity of microbial community[J]. Adv Microbiol Ecol, 1984, 7: 1-47.

[15] 李海涛, 邹庆道, 吕书文, 等. 番茄青枯病的研究进展[J]. 园艺学报, 2001, 28(增刊): 649-654.

[16] 贾爱萍, 赵冰, 廖宗文. 生化腐植酸的肥效及作用机理研究[J]. 腐殖酸, 2005(2): 15-19.

【责任编辑 周志红】