

生物有机肥对香蕉根际土壤生物多样性的影响

赵兰凤, 胡 伟, 刘小锋, 张 亮, 李华兴
(华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要:通过盆栽试验检测了施用生物有机肥对香蕉枯萎病的防治作用,并利用 Biolog-Eco 技术分析了不同施肥处理对香蕉根际土壤微生物群落功能多样性的影响.结果表明,生物有机肥的施用(肥料作为底肥一次施入)可以推迟香蕉枯萎病的发生,在种植 30 d 时防病效果达到 55.4%;香蕉枯萎病病情指数与 AWCD 值存在显著负相关,与 Simpson 指数呈极显著正相关.主成分分析表明,各处理点在 PRIN 轴上的分布与发病动态基本一致,且根际微生物群落有明显的差异,不同施肥处理对根际微生物群落功能有显著影响;经生物有机肥处理的根际微生物的活性较高,其利用的碳源中聚合物类和胺类相对较多,类型有别于有机肥和不施肥处理.

关键词:生物有机肥;香蕉;生物多样性;根际土壤;Biolog 法
中图分类号:S668.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2013)02-0144-05

Effects of Bio-organic Fertilizer on Biodiversity in Rhizosphere Soil of Banana

ZHAO Lanfeng, HU Wei, LIU Xiaofeng, ZHANG Liang, LI Huaxing
(College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The pot experiments were carried out to investigate the effects of bio-organic fertilizer on banana wilt disease and the influences of different fertilization treatments on bacterial community diversity in banana rhizosphere soil by Biolog-Eco plate method. The results showed that banana wilt disease was postponed by using bio-organic fertilizer. Control effects of bio-organic fertilizer on banana wilt disease were 55.4% after 30 days cultivation. The index of banana wilt disease was significantly negative correlated with AWCD in biolog plate, but significantly positive correlated with Simpson index. Results of principal components analysis indicated that distribution of different fertilization treatments were similar to the incidence trends, and rhizosphere microbial communities was obviously different; different fertilization treatments had a significant effect on the rhizosphere microbial community. Microbial activity in the rhizosphere soil of bio-organic fertilizer treatment was better. Furthermore, the category of carbon utilized by microbial in rhizosphere soil of bio-organic fertilizer treatment was different from that of organic fertilizer and control, and the polymers and amines were preferred.

Key words: bio-organic fertilizer; banana; biodiversity; rhizospheric soil; Biolog method

Biolog-Eco 技术广泛应用于评价土壤微生物群落的功能多样性^[1],如比较不同土壤类型^[2]、同类土壤不同植物物种^[3]、不同植被根际土壤微生物群落的功能多样性^[4].国内许多研究者也相继利用这一方法对不同环境条件下的土壤微生物功能多样性开展了大量研究^[5-8].有研究表明,土壤微生物

功能多样性和防病效果存在相关关系^[9-10]. 通过调控土壤微生物群落以及改变土壤微生物功能多样性可以抑制土传病害. 运用主成分分析,可解释隐含的存在于群落间的功能差异,对主成分1(PC1)和主成分2(PC2)贡献率高的碳源进一步分析,可揭示引起这些差异的主要碳源^[11]. 然而,有关生物有机肥防治香蕉枯萎病及其对根际微生物功能多样性的具体研究报道较少. 本文研究不同施肥处理香蕉根际微生物群落功能多样性,解析不同施肥处理根际微生物群落功能的差异及其对碳源特异利用,为进一步开展生物有机肥防治香蕉枯萎病提供

理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

- 1.1.1 供试土壤 采自华南农业大学农场由赤红壤发育而成的水稻土. 其主要理化性质为:轻壤土,有机质 12.1 g · kg⁻¹,pH5.98,碱解 N、有效 P 和速效 K 分别为 50.0、46.0 和 143.1 mg · kg⁻¹. 测定方法参照《土壤农业化学分析方法》^[12].
- 1.1.2 供试肥料 供试肥料及其基本性质如表 1 所示.

表 1 供试肥料的基本性质

Tab.1 Basic characteristics of two fertilizers in the pot experiment

肥料	w/(g · kg ⁻¹)				pH	w(水)/%	功能菌数量 ¹⁾ / (亿 cfu · g ⁻¹)
	全 N	全 P	全 K	有机质			
生物有机肥	41.6	7.5	16.5	678.5	4.79	37.85	0.87
有机肥	41.6	7.5	16.5	678.5	4.79	37.85	0

1) 功能菌数量指添加解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 的数量.

1.1.3 供试作物 香蕉:芭蕉 *Musa acuminata* AAA Cavendish cv. Brazil,营养杯组培苗由广东省农业科学院果树研究所提供.

1.1.4 病原菌 尖孢镰刀菌古巴专化型 4 号生理小种 *Fusarium oxyspoyum* f. sp. *cubence* race 4 (Foc4).

1.1.5 功能菌 解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (AF11b),由华南农业大学资源环境学院土壤学实验室筛选、分离并鉴定,对病原菌 Foc4 有较强的拮抗能力.

1.2 方法

- 1.2.1 试验设计 试验采用盆栽的方式,在华南农业大学资源环境学院网室中进行. 试验共设 3 个处理:不施肥(CK)、有机肥(T1)和生物有机肥(T2). 每个处理设 20 个重复,共 60 盆. 每盆装风干土(过 3 mm 筛)5 kg,生物有机肥和有机肥施用量均为 8 g · kg⁻¹,全部作为底肥与土壤混匀. 土壤浇水平衡 5 d 后移栽香蕉苗,选择生长大小一致的香蕉苗移植,每盆种植 1 株香蕉苗,在移栽的同时采用灌根法接种病原菌,病原菌菌液中孢子浓度为 10⁵ mL⁻¹,每盆浇 20 mL. 观察香蕉生长和枯萎病发生情况,生长 30 d 后收获蕉苗,观察地上部茎、叶黄化和枯萎情况,切开根部记录褐变程度. 香蕉枯萎病病情指数和防病效果计算参考文献^[13]. 取蕉苗根际土壤分析微生物功能多样性.
- 1.2.2 土壤细菌功能多样性分析 采用 Biolog-Eco

微平板法. Biolog 操作过程以及多样性指数计算参见文献^[14-15].

1.2.3 数据处理 采用 Excel2003、DPS7.05 和 SAS V9 统计软件进行分析.

2 结果与分析

2.1 生物有机肥对香蕉生长和枯萎病发生的影响

生物有机肥对香蕉生长和枯萎病发生的影响见表 2. 由表 2 可见,在植株移栽生长到 30 d 时,生物有机肥处理的香蕉病情指数比有机肥和不施肥处理的分别低 25.4 和 52.3,防病效果达到 55.4%,比有机肥的防病效果高 26.9%,说明生物有机肥的施用对防治香蕉枯萎病有明显效果. 生物有机肥和有机肥均能提高香蕉苗鲜质量,生物有机肥处理的鲜质量分别比不施肥和有机肥处理提高 15.6% 和 4.6%(表 2).

表 2 不同施肥处理香蕉鲜质量、病情指数和防病效果的比较(移栽后 30 d)

Tab.2 Comparisons of fertilizers on fresh mass of plants,disease index and antagonistic effect of banana wilt (after 30 days cultivation)

处理	鲜质量 ¹⁾ /g	病情指数	防病效果/%
不施肥	82.33 ± 2.72	94.4	
有机肥	86.14 ± 6.13	67.5	28.5
生物有机肥	95.19 ± 3.74	42.1	55.4

1) 以 3 棵香蕉苗质量计.

2.2 生物有机肥对根际土壤细菌功能多样性的影响

2.2.1 AWCD 值和多样性指数 AWCD (Average well color development) 值可反映土壤微生物对 Biolog-Eco 微平板中单一碳源总体利用能力^[16]. 试验结果(表 3)表明,施用生物有机肥和有机肥显著增加了 AWCD 值,且施用生物有机肥 AWCD 值略高于有机肥. AWCD 值与香蕉枯萎病病情指数呈显著负相关,说明 AWCD 值可以用作“施肥防病”的指标. 施用生物有机肥可以提高根际土壤微生物利用碳底物的能力,从而提高根际土壤微生物活性,提高土壤微生物的代谢能力和有益微生物的竞争力,使得病原菌难以入侵植株,进而达到防病的效果.

不同多样性指数可反映土壤微生物群落功能多

样性的不同侧面. Shannon 指数受群落物种丰富度影响较大. Simpson 指数较多反映群落中最常见的物种,而 McIntosh 指数则是度量群落物种均一性的指标^[17]. 从多样性指数结果(表 3)可以看出,生物有机肥处理的 Shannon 指数显著高于不施肥处理,但与有机肥处理未达到显著差异. 香蕉枯萎病病情指数与 Shannon 指数存在负相关,相关系数达到 -0.910 0;Simpson 指数与病情指数呈极显著正相关. 表明生物有机肥的防病效果优于有机肥和不施肥的主要原因在于香蕉枯萎病发病初期土壤微生物群落的组成特点不同,生物有机肥的碳源底物利用能力,土壤微生物群落的丰富度、均匀度等均处于较好的状态,这对于防治香蕉枯萎病有重要作用.

表 3 不同肥料处理对土壤微生物群落功能 AWCD 值和多样性指数的影响(72 h)¹⁾
Tab.3 AWCD and diversity indexes of soil microbial community with different treatments (72 h)

处理	AWCD 值	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数
不施肥	1.08 ± 0.05b	3.19 ± 0.03b	59.57 ± 6.69a	7.23 ± 0.18a
有机肥	1.40 ± 0.04a	3.28 ± 0.02ab	56.64 ± 1.73a	9.96 ± 1.31a
生物有机肥	1.50 ± 0.05a	3.29 ± 0.01a	54.15 ± 1.78a	9.27 ± 0.23a
与病情指数的相关性 ²⁾	-0.960 0*	-0.910 0	1.000 0**	-0.730 0

1)表中数值为 3 次重复的平均值 ± 标准误,同列数据不同处理间凡是有一个相同小写字母者,表示无显著差异($P>0.05$, Duncan's 法); 2) * 表示 0.05 水平显著相关, ** 表示 0.01 水平显著相关.

2.2.2 土壤微生物利用碳源作为底物的能力 研究土壤微生物对碳源利用能力的不同,可以深入了解微生物群落功能的差异. Biolog-Eco 板有 31 种碳源,可分为 6 大类. 不同处理的根际土壤微生物群落对 6 大类碳源利用结果见表 4. 由表 4 可见,生物有机肥处理对 6 大类碳源的的利用率均高于有机肥和

不施肥处理,对聚合物类和胺类利用能力显著高于有机肥处理. 表明生物有机肥的施入影响了土壤微生物群落结构,改变了微生物群落组成,生物有机肥中加入的功能微生物可显著影响土壤微生物碳底物利用能力;不施肥处理对 6 类碳源的利用水平均最低,反映其土壤微生物群落总体水平处于最低.

表 4 不同处理对土壤微生物利用碳源底物能力的影响(72 h)¹⁾
Tab.4 Effects of carbon substrate utilization by soil microbial community with different treatments (72 h)

处理	聚合物类	碳水化合物类	羧酸类	胺类	氨基酸类	酚类
不施肥	1.03 ± 0.12b	0.89 ± 0.04b	1.07 ± 0.04a	1.63 ± 0.01ab	1.26 ± 0.09a	1.17 ± 0.27a
有机肥	1.23 ± 0.05b	1.73 ± 0.02a	1.17 ± 0.07a	1.39 ± 0.08b	1.25 ± 0.03a	1.40 ± 0.26a
生物有机肥	1.59 ± 0.04a	1.69 ± 0.07a	1.23 ± 0.07a	1.78 ± 0.10a	1.41 ± 0.01a	1.37 ± 0.21a

1)表中数值为 3 次重复的平均值 ± 标准误,同列数据不同处理间凡是有一个相同小写字母者,表示无显著差异($P>0.05$, Duncan's 法).

2.2.3 根际土壤微生物群落功能主成分分析 土壤微生物群落功能主成分分析(Principal compinent analysis,PCA)用于研究微生物对碳源利用的特点. 通过主成分分析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的变化^[18]. 不同施肥处理根际土壤微生物群落代谢多样性经主成分分析(图 1)表明,第 1 主成分聚集了 41.68% 的数据变异,第 2 主成分聚集了 16.78% 的数据变异. 生物有机肥处理分布在第 1 区

间,且更偏向于 PRIN1 轴正方向,说明生物有机肥处理受第 1 和第 2 主成分影响比较大,尤其是第 1 主成分影响更大;有机肥处理分布在第 4 区间,说明有机肥处理受第 1 主成分影响比较大;不施肥处理分布在第 2 和第 3 区间,说明不施肥处理受第 2 主成分影响比较大. 利用主成分分析法对 31 种碳源进行进一步分析,对主成分贡献大于 0.2 的碳源有 L-苯基丙氨酸、吐温 80、 α -D-乳糖等 19 种,其中 α -环式糊精、肝糖、D-纤维二糖等 12 种碳源对第 1 主成分的

贡献较大,主要集中在聚合物、碳水化合物类和羧酸类中.而吐温 40、L-苯基丙氨酸、腐胺等 7 种碳源对第 2 主成分的贡献较大,主要集中在聚合物类和胺类(表 5).结合表 4 的结果分析,可认为生物有机肥处理对聚合物类和胺类的利用率显著高于其他处理,由此可以分析,聚合物类和胺类碳源是引起各处理在 PRIN1 轴方向上土壤微生物功能差异的主要因素.主成分分析结果表明,位于 PRIN1 轴正方向的依次为生物有机肥和有机肥处理,最后是不施肥处理,各处理点的分布与发病动态基本一致,不同施肥处理对根际微生物群落功能有显著影响,生物有机肥的施用能有效改善根际微生物群落功能.

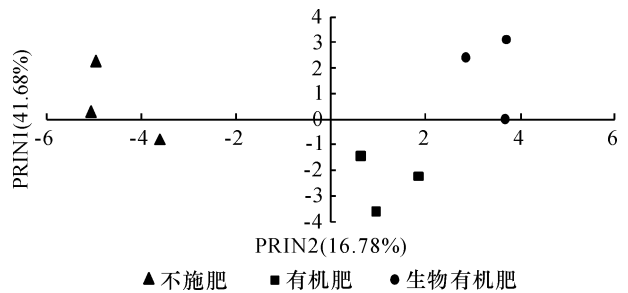


图1 不同施肥处理对土壤微生物群落代谢特性的主成分分析
Fig.1 Principal components analysis of soil microbial community with different treatments

表 5 对主成分贡献大于 0.2 的主要碳源
Tab.5 Main carbon sources on the contribution of principal component higher than 0.2

碳源	PRIN1	PRIN2
吐温 40	-0.08	0.25
吐温 80	0.05	0.29
α-环式糊精	0.22	0.03
肝糖	0.22	-0.04
D-纤维二糖	0.23	-0.07
α-D-乳糖	0.26	-0.11
I-赤藻醇	0.21	0.24
D-甘露醇	0.24	-0.01
N-乙酰基-D-葡萄糖	0.25	-0.09
D-半乳糖内酯	0.25	-0.12
γ-羟基丁酸	0.21	-0.07
衣康酸	0.25	-0.01
α-丁酮酸	0.21	0.06
D-苹果酸	0.16	0.23
L-精氨酸	0.19	0.27
L-冬酰胺酸	0.26	-0.06
L-苯基丙氨酸	0.03	0.36
苯乙基胺	0.15	0.25
腐胺	-0.06	0.25

3 讨论与结论

有机肥的施用能调整土壤微生物群落结构,提高土壤微生物多样性,从而改善土壤微生态环境,达到土传病害“无药可治,施肥可防”的目的^[19-20].本研究在有机肥的基础上添加了广谱抗病细菌解淀粉芽孢杆菌,试验结果表明,有机肥和生物有机肥均有明显的抗病效果,且生物有机肥抗病效果显著优于有机肥,表明添加的抗病菌种对香蕉枯萎病的防治有显著效果.

近年来,Biolog-Eco 技术应用于土壤微生物方面的研究越来越多^[21-22],李胜华等^[10]在大田试验中研究施用有机肥对番茄土传病害的防治效果显示,土壤微生物群落的 AWCD 值和 Shannon 指数与作物发病情况有较好的一致性,表明施肥能提高土壤微生物多样性,对土传病害的防治有重要的影响.袁英英^[23]研究了生物有机肥对番茄青枯病的防治效果,结果表明施用生物有机肥可以提高土壤的 AWCD 值以及 Shannon、Simpson 指数,增强对聚合物和胺类等碳源的利用,同时施用生物有机肥能调节土壤微生物结构,提高其多样性,与施肥防病的效果密切相关.本研究结果也表明,生物有机肥防病效果与根际土壤微生物群落的 AWCD 值和 Shannon 指数有很好的的一致性,且二者表征防病的规律基本一致.

植物根系之所以对土壤微生物群落有着显著的影响是因为根际环境非常有利于微生物的生存,使得微生物群落结构发生较大的改变^[24-26].在本研究中,不同施肥处理的香蕉根际微生物区系不同,而改变了的根际微生物的群落结构导致了根际微生物生理代谢等功能特性的变化.经 AWCD 及主成分分析,不同施肥处理根际微生物利用碳源的类型明显不同,生物有机肥处理利用的聚合物类和胺类相对较多.导致这种微生物群落功能变化的原因可能与不同施肥处理的香蕉根系分泌物种类及根脱落物成分差异有关.有研究证明,根系分泌物不仅为根际微生物提供所需的能源,而且不同根系分泌物直接影响着根际微生物的数量和种群结构^[27-29],根分泌物的多样性是根际微生物区系建立的先决条件,在一定程度上决定着根际微生物生态演替和种群格局的变化^[30].不同施肥处理根系分泌物的差异,及其对根际微生物群落结构和功能的特异影响还有待于深入研究.

参考文献:

[1] ROGERS B F, TATE R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a top sequence in pineland soils

- [J]. *Soil Biol Biochem*, 2001, 33(10): 1389-1401.
- [2] RITZ K, DIGHTON J, GILLER K E. Beyond the biomass: Compositional and functional analysis of soil microbial communities [M]. Chichester: John Wiley & Sons, 1994.
- [3] ZAK C J. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach [J]. *Soil Biol Biochem*, 1994, 26(9): 1101-1108.
- [4] GRAYSTON S J, WANG S, CAMPBELL C D, et al. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere [J]. *Soil Biol Biochem*, 1998, 30(3): 369-378.
- [5] 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.
- [6] 席劲瑛, 胡洪营, 姜健, 等. 生物过滤塔中微生物群落的代谢特性[J]. *环境科学*, 2005, 26(4): 165-170.
- [7] 杨元根, PATERSON E, CAMPBELL C. Biolog 方法在区分城市土壤与农村土壤微生物特性上的应用[J]. *土壤学报*, 2002, 39(4): 582-589.
- [8] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 等. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性[J]. *中国环境科学*, 2003, 23(3): 295-299.
- [9] 李斌, 谢关林, 陈若霞, 等. 耕作与栽培方式对瓜类土壤细菌数量及枯萎病拮抗细菌分布的影响[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(10): 1937-1940.
- [10] 李胜华, 谷丽萍, 刘可星. 有机肥配施对番茄土传病害的防治及土壤微生物多样性的调控[J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(4): 965-969.
- [11] 郑华, 欧阳志云, 王效科, 等. 不同森林恢复类型对土壤微生物群落的影响[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(11): 2019-2024.
- [12] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] XU Zhigang. General plant pathology [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2002: 236-262.
- [14] 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]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [15] JEFFERY S B, DONALD D K. Microbial diversity in the rhizosphere of corn grown under conventional and low input systems [J]. *Appl Soil Ecol*, 1996(5): 21-27.
- [16] GARLAND J L, MILLS A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [17] 张逸飞, 钟文辉, 李忠佩, 等. 长期不同施肥处理对红壤水稻土酶活性及微生物群落功能多样性的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2006, 22(4): 39-44.
- [18] 席劲瑛, 胡洪营, 钱易. Biolog 方法在环境微生物群落研究中的应用[J]. *微生物学报*, 2003, 43(1): 138-141.
- [19] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 等. 生态有机肥对番茄青枯病及土壤微生物多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(3): 349-353.
- [20] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文. 有机物料种类及腐熟水平对土壤微生物群落的影响[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(3): 487-492.
- [21] 谭兆赞, 林捷, 刘可星, 等. 复合微生物菌剂对番茄青枯病和土壤微生物多样性的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2007, 28(1): 45-47.
- [22] 胡可, 王利宾. BIOLOG 微平板技术在土壤微生态研究中的应用[J]. *土壤通报*, 2007, 38(4): 819-821.
- [23] 袁英英. 生物有机肥对番茄青枯病的防治及对土壤微生物的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2011.
- [24] BARBER D A, LYNCH J M. Microbial growth in the Rhizosphere [J]. *Soil Biol Biochem*, 1977, 21: 773-778.
- [25] FOSTER R C. Microenvironments of soil microorganism [J]. *Biology Fertilizer Soils*, 1988, 6: 189-203.
- [26] LYNCH J M. The Rhizosphere [M]. Chichester: John Wiley & Sons, 1990.
- [27] BAKKEN L R. Microbial growth and immobilization/mineralization of N in the rhizosphere [J]. *Symbiosis*, 1990, 9: 37-41.
- [28] TEXIER M, BILLES G. The role of the rhizosphere on C and N cycles in a plant-soil system [J]. *Symbiosis*, 1990, 9: 117-123.
- [29] 申建波, 张福锁, 毛达如. 根际微生态系统中的碳循环[J]. *植物营养与肥料学报*, 2001, 7(2): 232-240.
- [30] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. *生态环境*, 2003, 12(1): 102-105.

【责任编辑 周志红】