生 态 学 报 2010,30(19):5327—5337
Acta Ecologica Sinica

家畜粪便堆肥对番茄青枯病、土壤酶活性及土壤微生物功能多样性的影响

赵 娜, 林威鹏, 蔡昆争*, 王建武
(华南农业大学 农业部生态农业重点开放实验室,广州 510642)

摘要:合理施用堆肥能够有效地改善植物的生长条件和土壤的生态环境,从而提高植物对病害的抗性。通过盆栽实验,研究了家畜堆肥浸渍液及堆肥混土对番茄青枯病的防治效果及其对土壤酶活性和土壤微生物功能多样性的影响。结果表明,家畜堆肥浸渍液及堆肥混土均对番茄青枯病有一定防治效果,以体积分数 1:1、1:3 的浸渍液处理和质量分数 10% 的堆肥混土处理效果较好,分别降低病情指数 69.4%,31.5% 和 13.0%。而且浸渍液处理效果优于堆肥混土处理,浓度越高抗病效果越明显。堆肥混土处理可提高土壤脲酶活性,对蔗糖酶和过氧化氢酶活性影响不大;1:1 堆肥浸渍液处理能显著提高土壤脲酶和蔗糖酶活性。基于 BIOLOG 方法的土壤微生物群落功能研究表明,两种堆肥处理的平均每孔变化率(AWCD)值、Shannon 多样性指数、Simpson 多样性指数均较对照减小,而对于 Alatalo 均匀度指数则没有显著影响。不同堆肥处理间微生物碳源利用存在较大差异,堆肥混土处理的主要碳源是糖类和羧酸类物质,而浸渍液处理则是糖类和氨基酸类物质。通过主成分分析得到的堆肥处理聚类结果与各种处理的抗病性强弱分类情况相吻合,且与 AWCD 值、Shannon 多样性指数、Simpson 多样性指数的强弱分类也大致吻合。研究表明,施用家畜粪便堆肥主要通过改变土壤微生物群落多样性和土壤酶活性,提高番茄植株的抗病性。

关键词:堆肥;番茄;青枯病;土壤酶活性;BIOLOG;土壤微生物多样性;主成分分析

Impacts of livestock waste compost on tomato bacterial wilt, soil enzyme activity and soil microbial functional diversity

ZHAO Na, LIN Weipeng, CAI Kunzheng*, WANG Jianwu
Key Laboratory of Ecological Agriculture of Ministry of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, *China*

Abstract: Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*, is the most important bacterial disease of tomato crops, traditional chemical control is limited because of its efficiency and also it may result in serious negative effects to the environment. Soil amendment with compost has been a viable agronomical practice alternative to suppress disease as well as an attractive waste management strategy. The addition of mature compost to soil improves soil ecological environment and favors plant development, thereby strengthens plant resistance to pathogen, especially for soilborne plant pathogens. Compost amendments therefore maintain and enhance the fertility and productivity of agricultural soils, allowing a sustainable land use.

This study investigated impacts of compost soil mixture (CSM) and compost water extract (CWE) on tomato resistance to *Ralstonia solanacearum*, soil enzyme activity and soil microbial community functional diversity. Results showed that both CWE and CSM strengthened tomato resistance to *Ralstonia solanacearum*. Compared to the control treatment, application of volume fraction 1:1 and 1:3 CWE as well as mass fraction 10% CSM showed a good tomato resistance to *Ralstonia solanacearum*, decreasing disease index by 69.4%, 31.5% and 13.0% respectively 27 days after disease inoculation. The CWE treatment had better tomato resistance to *Ralstonia solanacearum* than that of the CSM treatment and such a resistance increased with the CWE content. The CSM treatment significantly increased soil urease activity but had no impact on soil

基金项目:国家重点基础研究计划资助项目(2006CB1002006);国家科技支撑计划资助项目(2007BAD89B14)
收稿日期:2009-09-08; **修订日期**:2009-12-30

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: kzcai@scau.edu.cn

sucrase and catalase activities. Compared with the control treatment, the 1:1 CWE treatment significantly increased soil urease and sucrase activities. Based on the results from BIOLOG analysis for soil microbial community, two kinds of compost treatments significantly reduced the rate of substrate utilization (average well color development, AWCD), with the increase of compost concentration, the lower AWCD value was got. Shannon index and Simpson index of soil microbial community were also decreased after compost application as compared to those of the control treatment. The CMS and CWE treatment had no significant influence on Alatalo evenness. There was a distinct difference in carbon source utilization by soil microorganisms among compost treatments. The main carbon resources used by microbial were carbohydrates and carboxylic acid for the CSM treatment and were carbohydrates and amino acids for the CWE treatment. The classification resulted from principal component analysis (PCA) was accorded with the classification of the tomato resistance to bacterial wilt.

This study suggests that livestock waste compost is one of the effective measures to control *Ralstonia solanacearum*, but the inhibitory effects depend on the treatment patterns and concentrations of compost, and the enhancement of tomato resistance to *Ralstonia solanacearum* by livestock waste compost is associated with the modification of soil microbial community functional biodiversity and enzyme activity, and as a result, enhance the competition and/or antagonism among microbes, leading to a decrease in plant pathogens activity.

Key Words: compost; tomato; *Ralstonia solanacearum*; soil enzyme activity; BIOLOG; soil microbial functional diversity; Principal Component Analysis

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[1-2]。目前生产上主要采用抗病品种和轮作等农业措施来防治青枯病,但由于受到各种条件的限制,防治效果仍不理想。水旱轮作要求轮作年限长、且只有在田间无其它寄主存在的条件下方可起到良好效果,因此实施起来比较困难[3]。利用抗病品种虽是防治青枯病最为经济有效的途径,但番茄抗青枯病的材料收集难度较大。因而探索防治青枯病的新方法和新技术,对防治番茄青枯病具有重要的现实意义。蔡燕飞等[4]研究表明,施用有机肥可以显著降低番茄青枯病发病率,可能是由于施用有机肥提高了土壤的微生物群落多样性,改善了土壤微生物群落结构,或者诱导了青枯病菌拮抗菌的生长。也有研究认为,腐熟度是影响家畜粪便防治番茄青枯病效果及土壤微生物群落代谢特征的重要因素[5-6]。赵娜等[7]研究表明,使用堆肥浸渍液能够显著降低番茄青枯病发病率,主要原因在于是堆肥处理能够诱导植物体内保护酶如 POD、PPO、PAL 等的活性升高,从而提高抗病性。蔬菜经沤肥浸渍液处理后,黄瓜叶内过氧化氢酶,青椒叶内多酚氧化酶和番茄叶内 β-1,3-葡聚糖酶活性等抗病相关酶活性明显的增加[8]。根据前人的研究结果,施用堆肥提高植物抗病性的机理,主要表现在两方面,一是通过诱导植物自身产生抗性生理代谢变化来提高抗病性;二是改善土壤生态环境,如通过改变土壤微生物群落多样性和营养结构,从而抑制土传病害微生物的繁殖。

本研究以猪场干式养殖生产模式制成的商品化堆肥为实验材料,研究不同堆肥施用方式对番茄的抗病效果和土壤酶活性和土壤微生物群落结构和功能的影响,以便更好的揭示堆肥提高植物抗病性的机制,为堆肥的合理施用提供理论依据和实践指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用的番茄品种为红樱桃,属于微型番茄品种,由华南农业大学园艺学院选育。该品种适应性较强,对土壤、气候等要求不严格,适合我国南北各地种植,但易感青枯病,忌与茄科作物连作。供试土壤采自华南农业大学农学院农场番茄连作土,土壤的理化性状为:有机质含量 24.32 g/kg,全氮含量 2.06 g/kg,碱解氮含量 96.07 mg/kg,速效磷含量 334.92 mg/kg,速效钾含量 138.00 mg/kg,土壤 pH 值 6.06。供试堆肥来源于猪场干式养殖粪便并经过堆制而成的堆肥,由佛山高明向日葵生物科技有限公司提供,其有机质含量为 400 g/kg,

总氮为 10 g/kg,磷酐 18 g/kg,氧化钾 15 g/kg,氧化钙 2.7 g/kg,氧化镁为 0.41 g/kg。该堆肥已经在生产上使用多年,性状比较稳定。供试用菌株为广东番茄青枯小种 1 号生化型强致病菌系。

1.2　实验设计

实验包括不同比例堆肥混土和不同比例堆肥浸渍液 2 个实验。实验为盆栽实验,所用塑料盆直径大小为 25cm,高 30cm,其中每盆装风干土 5 kg。

1.2.1　堆肥混土实验

添加重量比例为 10%、5%、1% 的堆肥混入土壤,代号分别为 D-10%,D-5%,D-1%,不加堆肥的作为对照,代号为 CK1,每个处理 5 个重复(盆),每盆种 3 株番茄,其它水分管理每种处理保持一致。当番茄幼苗长到 5—6 叶龄时,进行青枯病的接种。采用伤根灌注法接种,在每盆注入浓度约为 6×10^8 CFU/mL 的菌悬液 5 mL 于番茄植株的根部。在接菌后 10 d,青枯病开始发病时,每隔 5—6d 进行病情指数的调查。

1.2.2　堆肥浸渍液实验

番茄幼苗培养同堆肥混土实验,当幼苗生长到 3—4 叶株龄时,即进行浸渍液灌溉。浸渍液的制备:在使用前 7 d 将堆肥加水浸泡,堆肥与水的体积分数为 1:1,1:3 和 1:10,7 d 后用双层纱布过滤、滤液即为堆肥浸渍液,各处理代号为 J-1:1,J-1:3,J-1:10,以不施浸渍液但施加等量水作为对照,代号 CK2,4 个处理,5 个重复(盆)。每星期灌溉 2 次,每次 30 mL。青枯病接种及测定如堆肥混土实验。

1.3　指标测定

1.3.1　病情指数的调查

接种后第 10 天开始调查番茄发病情况,记载发病率及严重度,之后每隔 5—6d 调查 1 次,直至番茄枯死为止,调查期间正常管理。严重度分级:0 级为无症状;1 级为 1 张叶片半萎蔫;3 级为 2—3 片叶片萎蔫;5 级为除顶端 1—2 片叶片外,其余叶片均萎蔫;7 级为所有叶片均萎蔫;9 级为叶片和植株枯死。病情指数 = Σ(病级株数 × 代表数值)/(株数总和 × 发病最重级的代表数值) × 100%[3]。

1.3.2　土壤酶活性

在实验结束的第 27 天,从各个处理的 5 个重复(盆)中,取土样进行土壤酶活性和微生物多样性的测定。土壤脲酶采用苯酚钠比色法测定[10],土壤过氧化氢酶采用高锰酸钾法测定[11],土壤蔗糖酶采用 3, 5 二硝基水扬酸比色法测定[12]。

1.3.3　土壤微生物多样性

土壤微生物碳源利用的多样性采用 BIOLOG 生态测试板进行测定,从 5 个重复(盆)中随机选取 3 个进行检测(BIOLOG ECO 微平板购自美国 BIOLOG 公司),酶标仪为瑞士 TECAN 公司生产的 FO39300 型。根据土壤含水量称取相当于 25 g 烘干土重的新鲜土样加入内有 100 mL 无菌水的三角瓶中, 加无菌棉花塞, 在 200 r/min 下振荡 30 min, 然后按逐步稀释法, 依次稀释为 10^{-2}、10^{-3} 梯度液。用 10^{-3} 稀释液接种生态测试板, 接种量为 150 μL。将接种好的测试板在(25 ± 1)℃ 下培养 168 h, 每 24 h 用 BIOLOG 读数仪(BIOLOG, Hayward, USA)在 590 nm 下读数。计算平均吸光值 AWCD(average well color development)值[13],再根据 144 h 的培养基利用碳源的丰富度计算多样性和均匀度指数。AWCD 值及时间变化可以表征微生物整体活性,而且是一个能够反映土壤微生物群落生理功能多样性的重要指标[14]。AWCD 值的变化速率(斜率)和最终达到的值反映了土壤微生物单一碳源利用能力。根据培养基利用碳源的丰富度、多样性和均匀度指数,按照计算物种指数的方法(表 1),计算出土壤微生物群落功能多样性。数据经 Excel 2007 处理后,采用 SPSS17 软件进行方差分析($P<0.05$)、主成分分析(principal component analysis)。主成分分析采用协方差矩阵为因子提取依据,其它参数选取系统默认值。

2　结果与分析

2.1　不同堆肥处理对番茄青枯病的控制效果

不同堆肥处理对番茄青枯病控制效果不同(图 1)。在堆肥混土实验中,D-10% 处理效果最好,发病时间

较 CK1 推迟了 5 d,且番茄青枯病病情指数一直显著低于对照(CK1),而 D-5% 和 D-1% 的堆肥混土处理与 CK1 没有明显差异。

表 1 土壤微生物多样性指数计算公式[14-16]

Table 1 Formulas for calculations functional diversity of soil microbial communities

多样性指数 Biodiversity index	定义 Definition	公式 Formula	备注 Notes
Shannon-Wiener 指数 Shannon-Wiener index	基于信息论范畴,数值越高,多样性越丰富多样性的信息度量	$H = -\sum_{i=1}^{S}(P_i \ln P_{in})$	*Pi* 为第 *i* 孔的相对吸光值(C-R)与整个平板相对吸光值总和的比率
Simpson 指数 Simpson index	基于概率论范畴,数值越高,多样性越丰富	$D = 1 - \sum_{i=1}^{S}(p_i^2)$	*ni* 为第 *i* 孔的相对吸光值(C-R)
Alatolo 均匀度 Alatolo evenness	群落中不同物种分布的均匀程度	$E_a = \frac{[(\sum p_i^2)^{-1} - 1]}{[\exp - (-\sum p_i \times \log P_i) - 1]}$	

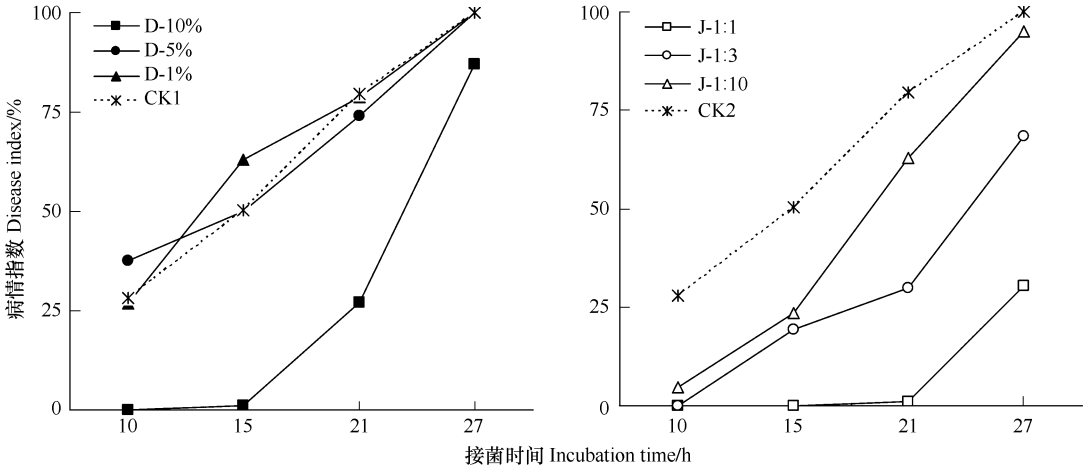

图 1 不同堆肥使用方式对番茄青枯病病情指数的影响

Fig. 1 Effects of animal compost application on disease index of bacteria wilt in tomato

D-10%, D-5% and D-1% 分别表示堆肥重量占土壤重量的质量分数为 10%,5% 和 1%;J-1:1, J-1:3, J-1:10 分别表示堆肥与水体积分数为 1:1,1:3 和 1:10;CK1 和 CK2 为对照,以下同

在浸渍液实验中,3 种处理的病情指数始终低于 CK2,其中 J-1:1 处理的效果最好,发病时间较 CK2 推迟了 11d,且当对照(CK2)全部死亡时,J-1:1 处理的病情指数只有 30%,J-1:3 的处理控病次之,最后为 J-1:10 处理,表现为明显的顺浓度趋势,浓度越高,控病效果越好。

2.2 不同堆肥处理对土壤酶活性的影响

2.2.1 土壤脲酶

堆肥不同处理方式对土壤脲酶活性的影响存在一定差异(图 2)。在堆肥混土实验中,土壤脲酶活性随混肥比例的增加而增强,D-10% 处理的土壤脲酶活性最高,达到 254.2 mg/g。与对照(CK1)相比,D-10%、D-5%、D-1% 处理增加幅度分别为 76.58%、55.72%、13.28%,均达到显著差异。

在浸渍液实验中,J-1:1 处理能显著增加土壤脲酶活性,具有最高的土壤脲酶活性,增加幅度为 17.7%,其他处理与对照(CK2)相比没有显著差异。

2.2.2 土壤蔗糖酶

图 3 表明,与对照相比,浓度较高的 10% 的堆肥混土处理(D-10%)和 1:1 的浸渍液处理(J-1:1)能显著提高土壤蔗糖酶的活性,增幅分别达 73.51% 和 106.84%,达到显著水平,其他处理对蔗糖酶活性没有显著影响。

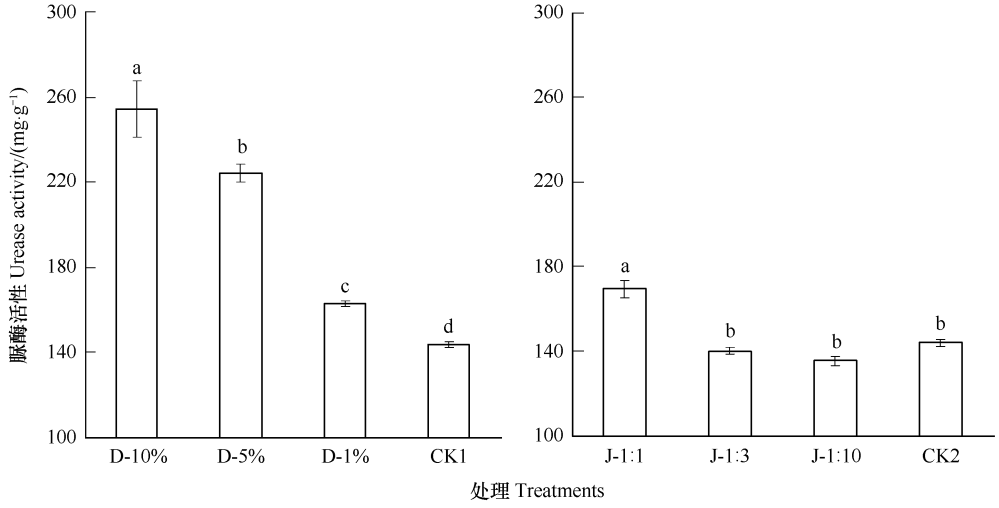

图 2　不同家畜堆肥处理对土壤脲酶活性的影响

Fig. 2　Effects of different compost treatments on the activity of soil urease

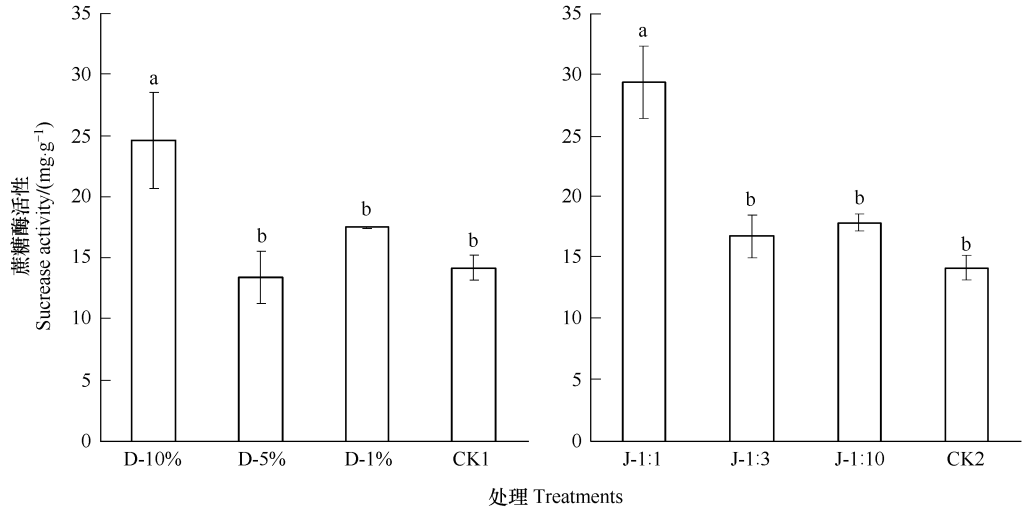

图 3　不同家畜堆肥处理对土壤蔗糖酶活性的影响

Fig. 3　Effects of different compost treatments on the activity of soil sucrase

2.2.3　土壤过氧化氢酶

不同堆肥处理对过氧化氢酶活性的影响差异不大(图 4)。在堆肥混土实验中,组内各处理均与对照(CK1)差异不显著;而在浸渍液实验中,J-1:1 处理和 J-1:10 处理较对照(CK2)有所下降,但差异不显著。

2.3　不同堆肥处理下土壤微生物群落的 AWCD 值变化

由图 5 可见,两组实验各处理的 AWCD 值均随着培养时间的持续而增加。在培养最初的 24 h,各处理 AWCD 值变化均较小,从 24—48 h,AWCD 值增长速度加快,48 h 后呈现快速增长并一直延续到 144 h,144 h 后则趋于稳定。

在整个培养周期内,不同堆肥处理的 AWCD 值的变化速率和最终所能达到值均低于对照,且表现为 AWCD 值逆浓度梯度的趋势。在堆肥混土实验中,D-1% 处理的 AWCD 值始终高于其他 2 种处理。在 24—96 h,D-5% 处理 AWCD 值高于 D-10% 处理,培养经过 96h,D-10% 处理 AWCD 超过 D-5% 处理,并维持到培养结束。在浸渍液实验中,自培养开始至结束,3 种处理 AWCD 值始终表现为 J-1:10 > J-1:3 > J-1:1,呈现明显的逆浓度梯度的趋势。

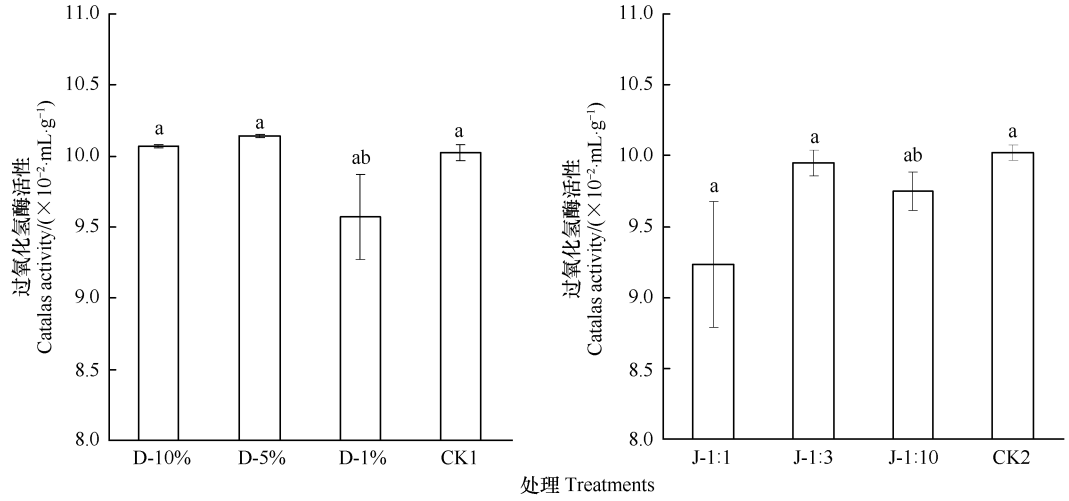

图 4 不同家畜堆肥处理对土壤过氧化氢酶活性的影响

Fig. 4 Effects of different compost treatments on the activity of soil catalase

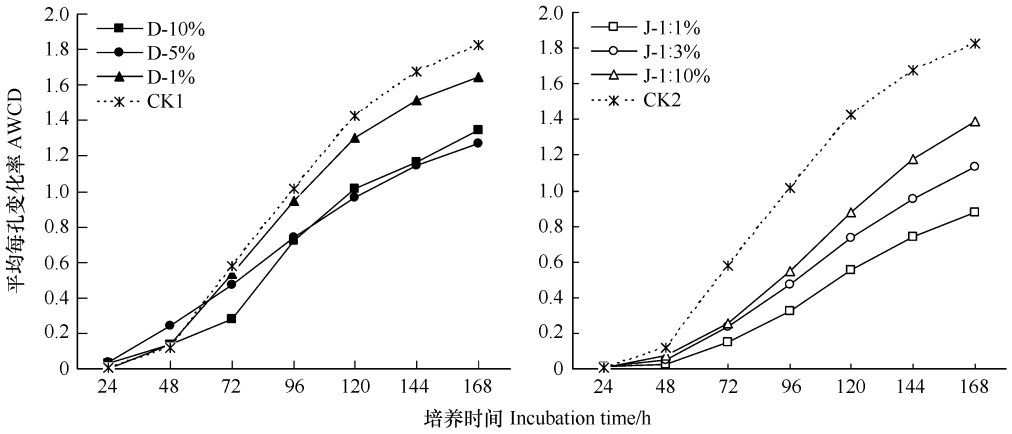

图 5 不同家畜堆肥处理土壤微生物 AWCD 值的变化

Fig. 5 Effects of animal compost treatments on the change of soil microbial AWCD value

2.4 不同堆肥处理对土壤微生物功能多样性的影响

采用土壤 ELISA 反应 144 h 的数据，分析土壤微生物群落对 31 种碳源的利情况用，并分别计算微生物群落 Shannon 多样性指数、Simpson 多样性指数和 Alatolo 均匀度指数，如图 6 所示。

Shannon 指数受群落物种丰富度影响较大[17]。在堆肥混土实验中，各处理的 Shannon 多样性指数均显著低于对照 CK1。在浸渍液实验中，同样出现各处理 Shannon 多样性指数显著低于 CK2，且 Shannon 多样性指数随浸渍液浓度的降低而增大。

Simpson 多样性指数反映了群落中常见的物种多少。在堆肥混土实验中，除了 D-1% 处理外，各处理的 Simpson 多样性指数均显著低于 CK1（$P < 0.05$）。在浸渍液实验中，各处理 Simpson 多样性指数均显著低于 CK2。

堆肥对 Alatalo 均匀度指数没有显著影响。堆肥混土实验的 3 个处理均比对照（CK1）处理有所升高，而浸渍液实验中的 3 个处理则呈现降低趋势。在浸渍液实验中，还出现了 Alatalo 均匀度指数呈现随浸渍液浓度的降低而减小的趋势。

2.5 不同堆肥处理土壤微生物对碳源利用多样性的主成分析

土壤微生物多样性反映了群落总体的变化，但未能反映微生物群落代谢的详细信息，研究土壤微生物对

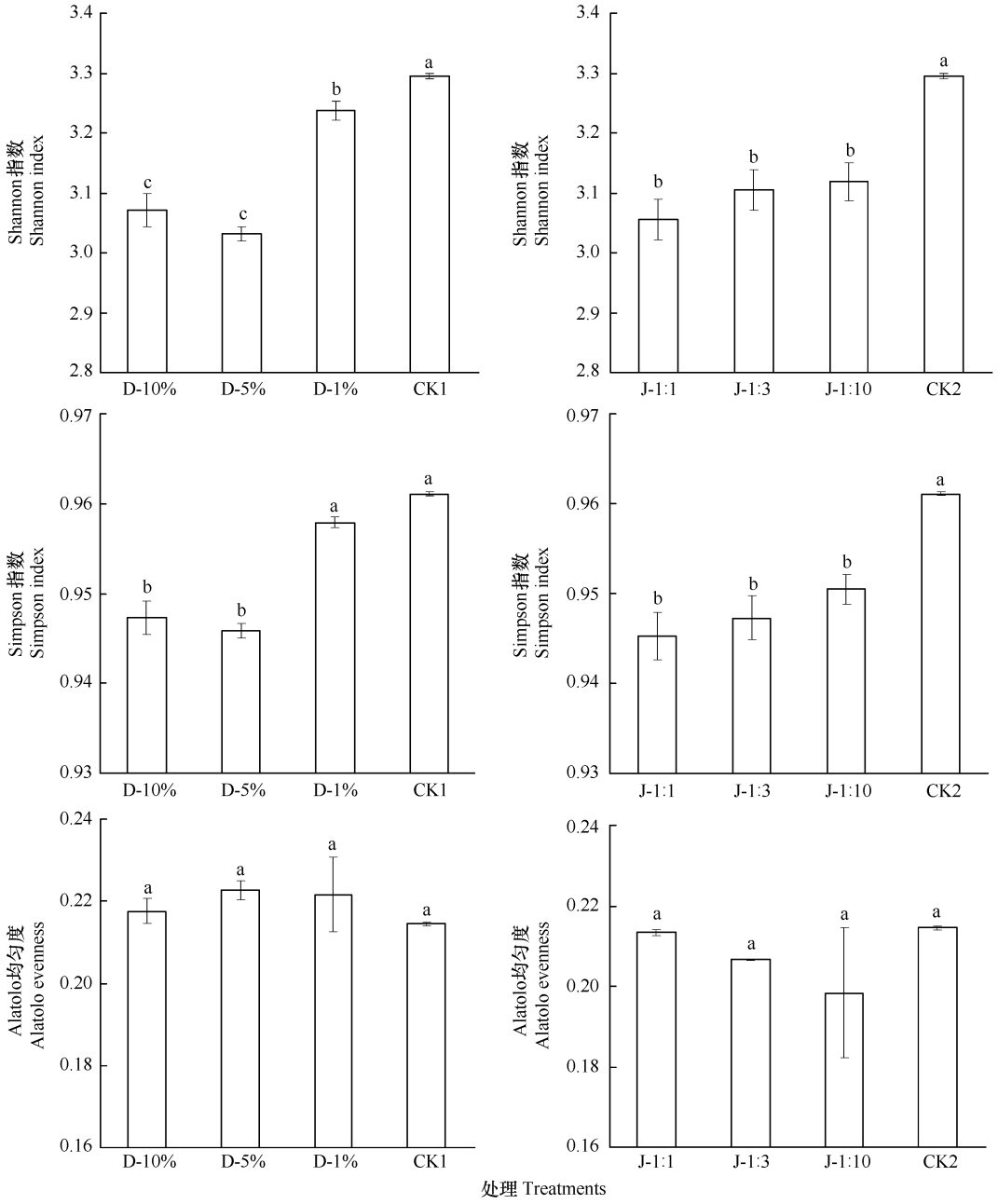

图 6　不同家畜堆肥处理对土壤微生物多样性指数的影响

Fig. 6　Effects of animal compost treatments on soil microbial biodiversity index

不同碳源利用能力的差异,有助于更加全面地了解微生物群落代谢功能特性[6]。通过对 BIOLOG 测试所获得的反应 144 h 数据进行主成分分析,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变化。

土壤微生物群落代谢多样性主成分分析如图 7 所示。在堆肥混土实验中,不同处理间的结果呈现明显差异。通过计算得分,4 种处理可分成两大类:以 D-10%、D-5% 处理为一类,其主成分 1 都是负值;以 D-1%、CK1 处理为另一类,土壤微生物主成分 1 的得分值都是正值。

在浸渍液实验中,3 种处理的土壤微生物主成分得分分布一致,与 CK2 明显区分开了。3 种处理土壤微生物主成分 1 的得分值基本是负值,而土壤微生物主成分 2 的得分值则主要集中在正负 1 之间。不同处理间较难分开,这反映在浸渍液实验中,不同处理具有相似的群落代谢结构和特点。

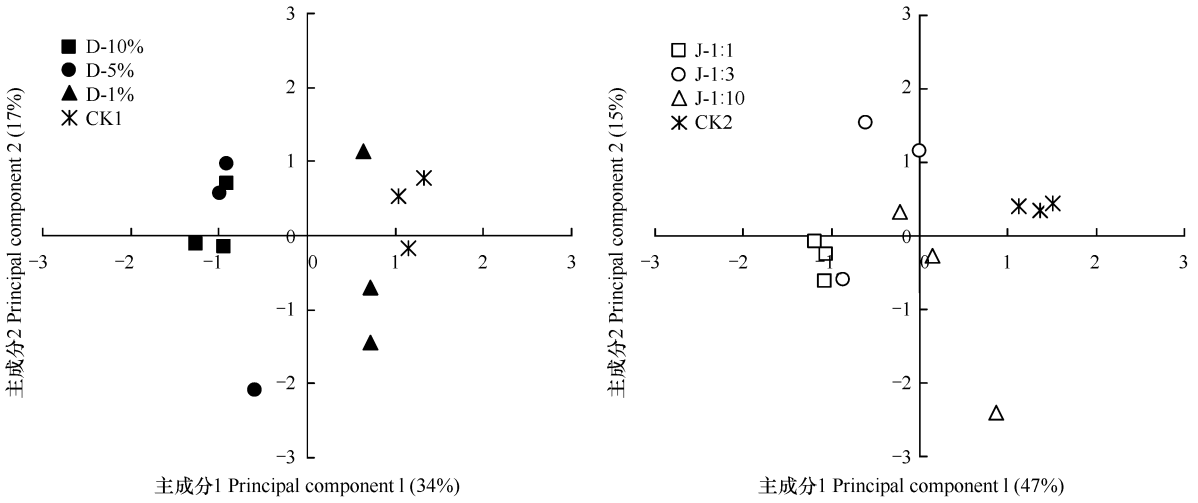

图 7 不同家畜堆肥处理土壤微生物群落功能主成分分析

Fig. 7 Principal components analysis of soil microbial communities under different compost treatments

与主成分 1 和主成分 2 具有较高相关系数的碳源见表 2。在堆肥混土实验中,对 PCA1 贡献率最高的是 β-甲基 D-葡萄糖苷,属于糖类物质;而在 PCA2 中,贡献率最大的是苯乙基胺,属于胺类物质。因此在堆肥混土实验中,对主成分分异作用的主要碳源是糖类物质和胺类物质。而在浸渍液实验中,对 PCA1 贡献率最大的是葡萄糖-1-磷酸盐,属于糖类物质;而对 PCA2 贡献率最大的则是 L-丝氨酸,属于氨基酸。因此在浸渍液实验中,对主成分分异作用的主要碳源是糖类物质和氨基酸类物质,与堆肥混土实验有所差别。

表 2 土壤中与 PCA1 和 PCA2 相关的微生物主要利用碳源

Table 2 Main carbon resources of microbial utilization related to PCA1 and PCA2 in soil

堆肥混土处理 Compost mixed with soil				浸渍液处理 Compost water extracts			
PCA1	相关系数 Correlation coefficients	PCA2	相关系数 Correlation coefficients	PCA1	相关系数 Correlation coefficients	PCA2	相关系数 Correlation coefficients
吐温 80	0.831	D-甘露醇	0.711	吐温 40	0.637	D-半乳糖内酯	0.635
a-环式糊精	0.800	衣康酸	0.689	a-环式糊精	0.818	L-丝氨酸	0.814
肝糖	0.813	苯乙基胺	0.883	D-纤维二糖	0.800		
a-D-乳糖	0.704			a-D-乳糖	0.824		
β-甲基 D-葡萄糖苷	0.952	N-乙酰基-D-葡萄胺	0.637	β-甲基 D-葡萄糖苷	0.801		
4-羟基苯甲酸	0.751			D-木糖	0.767		
a-丁酮酸	0.717			I-赤藻糖醇	0.684		
L-精氨酸	0.664			D-甘露醇	0.823		
L-苯基丙氨酸	0.675			葡萄糖-1-磷酸盐	0.896		
L-苏氨酸	0.864			L-精氨酸	0.768		
				L-天冬酰胺酸	0.869		
				L-苯基丙氨酸	0.896		
				L-苏氨酸	0.869		
				甘氨酰-L-谷氨酸	0.863		
				苯乙基胺	0.628		
				腐胺	0.636		

3 讨论

3.1 堆肥处理对番茄青枯病的抗性影响

本实验结果表明,不同堆肥处理均能降低番茄青枯病的病情指数,其中以 10% 堆肥混土处理(D-10%)、

1:1浸渍液处理(J-1:1)和 1:3 浸渍液处理(J-1:3)对番茄青枯病的抑制效果较好,而且植株抗病性随着混肥(浸渍液)比例增加而显著提高。据赵娜等[7]、随学超等[18]研究表明,施用有机肥能够提高植物叶片保护酶如 POD,SOD,CAT,PAL 等的活性,从而提高植物的抗病性。马利平等[19]研究发现,使用家畜沤肥浸渍液处理青椒后,能够提高青椒叶片 β-1,32 葡聚糖酶、多酚氧化酶和苯丙氨酸转氨酶的活性,而且其植株高度、叶片厚度和叶脉直径均比对照有所增高。以上研究均说明在土壤中施入堆肥,可以通过诱导植物改变其生理和形态条件,提高植株的抗病、抗逆性,使得作物能更好生长。

通过比较本实验两组处理,发现随堆肥施用方式和施用浓度的不同,植株抗病效果也存在差异,总体表现为浸渍液处理抗病效果性优于堆肥混土处理。据 Borrero 等[20]研究发现不同种堆肥对番茄镰刀枯萎病 *Fusarium wilt* 的抑制效果存在差异,其主要原因可能与堆肥所含的养分和激素不同有关。

3.2　堆肥处理对土壤酶活性的影响

土壤酶来自土壤微生物、植物和动物活体或残体,其活性强弱是表征土壤熟化和肥力水平高低的重要指标,可用来评价土壤营养物质的转化能力和土壤保肥供肥的能力[21]。土壤脲酶直接参与土壤中含氮有机化合物的转化,其活性强度常用来表征土壤氮素供应强度,研究脲酶活性能够了解氮素转化能力和氮素有效化强度[22]。各堆肥混土处理及 1:1 的浸渍液处理均能显著提高土壤脲酶活性,且随堆肥施入量的增加,脲酶活性也相应增加。郝晶等[23]对嫁接茄子抗黄萎病的研究发现,抗病性较强的嫁接茄子其土壤脲酶活性在整个生长周期内高于对照,且更加稳定。本研究也表明,具有较高土壤脲酶活性的 D-10% 和 J-1:1 处理其抗病性也较好。蔗糖酶参与碳水化合物的转化,其活性反映了土壤有机碳累积与分解转化的规律。本实验发现,D-10% 和 J-1:1 等抗病性效果较好的处理,其蔗糖酶含量均较高。过氧化氢酶参与生物的呼吸代谢,其活性与土壤有机质的转化速度有密切关系,一般可用表征微生物数量的多少[24]。本实验结果表明,不同处理间土壤过氧化氢酶差异并不显著,与李云鹏等[25]和李轶等[26]的研究结果类似。

3.3　堆肥处理对土壤微生物群落功能多样性的影响

施有机肥能调控土壤微生物群落结构,提高土壤微生物多样性,促进有益微生物的生长,通过改善土壤生态环境从而抑制番茄青枯病的发生[4,27-29]。据报道,在土壤中施用 NMF 菌落腐熟牛粪能够促进土壤中细菌和放线菌的生长,抑制土壤真菌的增长,明显降低小麦纹枯病和番茄灰霉病的发病率[30]。Yoshiko 等[31]借助于 BIOLOG 微平板研究根际微生物对碳源的利用类型及所在微生物对番茄青枯病菌的影响,研究发现番茄青枯病菌与根际微生物对碳源的竞争利用在抑制青枯病菌的生长方面起了重要作用。但也有研究发现,在土壤中使用园地垃圾堆肥可极大地降低番茄根腐病发病率,但是土壤中微生物活性、微生物数量高低与番茄根腐病发病率之间并没有显著的相关性[32]。本研究表明,与对照相比,不同堆肥处理的 AWCD 值的变化速率和最终能够达到的 AWCD 值均有所降低。而在土壤微生物群落多样性指数中,各种处理的 Shannon 多样性指数,Simpson 多样性指数均较对照低;但在 Alatolo 均匀度指数中,则呈现两种情况:混肥组的 3 个处理较对照有所提高,而浸渍液组的 3 个处理则较对照有所降低。各种堆肥处理微生物群落功能多样性指数降低的可能原因是,施加有机肥提高了土壤的营养物质和激素含量,促进了部分优势微生物的快速繁殖,造成土壤微生物群落结构的重建,降低了土壤微生物的多样性。本实验还发现,微生物多样性随着混肥比例(浓度)的提高而降低,这与孔维栋等[6]、Bending 等[33]的研究结果相似,其原因可能是土壤有机质含量越高,则土壤中微生物的优势种群越明显,促使劣势种群竞争性减弱,从而导致劣势种群逐渐消失,最终使原有土壤微生物多样性降低。据徐华勤[34]和孔维栋等[6]研究报道,施用有机肥降低了土壤微生物群落均匀度。本研究则表明,施加有机肥可能提高也可能降低土壤微生物的均匀度。其原因可能是由于施入堆肥性质和状态的不同,其所带入的营养物质和激素也不同。植物的抗病性与土壤微生物群落功能多样性的关系非常复杂,不能简单地认为多样性越高,则植物的抗病性越强,这与不同土壤的物理状况、土壤肥力水平、不同有机物料的施用等均有关。

本研究利用主成分分析法分析了不同堆肥处理间土壤微生物对碳源的利用情况,并进行分类,其分类结果与各种处理的抗病性强弱分类情况相吻合,而与 AWCD 值、Shannon 多样性指数、Simpson 多样性指数强弱

分类也相吻合。从不同碳源的代谢能力差异看,糖类、氨基酸类和聚合物类是影响不同处理间微生物利用的主要碳源。

References:

[1] Hayward A C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annual Review of Physiopathology, 1991, 29(1): 65-87.

[2] Hartman G L, Elphinstone J G. Advances in the control of *Pseudomonas solanacearum* race 1 in major food crops. Plant Disease, 1994, 42(1): 157-177.

[3] Fang Z D. The Methods of Plant Disease (3 th). Beijing: Chinese Agricultural Press, 1998: 388.

[4] Cai Y F, Liao Z W, Dong C, Shi M B. Soil microbial regulation for controlling bacterial wilt of tomato. Journal of Agro-Environment Science, 2002, 21(5): 417-420.

[5] Tuitert G, Szczech M, Bollen G J. Suppression of *Rhizoctonia solani* in potting mixtures amended with compost made from organic household waste. Physiopathology, 1998, 88(8): 764-773.

[6] Kong W D, Liu K X, Liao Z W, Zhu YB, Wang B L. Effects of organic matters on metabolic functional diversity of soil microbial community under pot incubation conditions. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(9): 2291-2296.

[7] Zhao N, Cai K Z, Wang G P, Wang Y. Induced resistance of tomato plants to bacterial wilt by livestock wastes compost and its physiological mechanisms. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(5): 2058-2063.

[8] Gao F, Ma L P, Qiao X W, Hao B Q. The effects of compost extracts of livestock manure on the chlorophyll content and the activity of the disease resistance related enzymes in vegetables. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2003, 18(2): 60-62.

[9] Wang G P, Xiong Z K, Lin M B. A preliminary study on the evaluation of bacterial wilt resistance in tomato by a stem imprint method. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2003, 25(5): 780-782.

[10] Institute of Soil Science Chinese Academy of Science. Methods of Soil Microbiology. Beijing: Science Press, 1985: 268-269.

[11] Zhou L K, Zhang Z M. The determination method of soil enzyme activity. Chinese Journal of Soil Science, 1980(5): 37-38.

[12] Guan S Y. The Analysis Method of Soil Enzyme. Beijing: Agriculture Press, 1986: 275-276.

[13] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28(2): 213-221.

[14] 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. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(8): 2351-2359.

[15] Ma K P, Liu Y M. Methods of measure on of biological community diversity Ⅰ. αdiversity (Ⅱ). Chinese Biodiversity, 1994, 2(4): 231-239.

[16] Xu H Q, Xiao R L, Song T Q, Luo W, Ren Q, Huang Y. Effects of mulching and intercropping on the functional diversity of soil microbial communities in tea plantations. Biodiversity Science, 2008, 16(2): 166-174.

[17] Magurran A E. Ecological Diversity and its Measurement. New Jersey: Princeton University Press, 1988: 141-162.

[18] Sui X C, Pu C X, Guo S C, Zhu YW, Liang Y, Zhou J B. Effects of adding slow- release organic fertilizer (SROF) into substrates on controlling tomato bacterial wilt. Jiangsu Agricultural Sciences, 2007, (4): 85-88.

[19] Ma L P, Qiao X W, Gao F, Hao B Q. Control of sweet pepper fusarium wilt with compost extracts and its mechanism. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2001, 7(1): 84-87.

[20] Borrero C, Trillas M I, Ordovás J, Tello JC, Avilés M. Predictive factors for the suppression of fusarium wilt of tomato in plant growth media. Phytopathology, 2004, 94(10): 1094-1101.

[21] Cai K Z, Luo S M, Fang X. Effects of film mulching of upland rice on root and leaf traits, soil nutrient content and soil microbial activity. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(6): 1903-1911.

[22] Yang Y S, He Z M, Yu X T. Changes of soil biological activities after the replacement of broadleaved forest by Chinese fir forest. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 1997, 3(4): 313-318.

[23] Hao J, Zhou B L, Liu N, Dou L P, Guan X C, Ye X L. Relationships between grafted eggplant's verticillium-resistance and rhizospheric soil microbial biomass and enzyme. Journal of Shenyang Agricultural University, 2009, 40(2): 148-151.

[24] Zheng Y S, Huang B L. A study on biomass and soil fertility in the mixed stands of michelia fujiansis and Chinese fir. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 1998, 22(2): 49-52.

[25] Li Y P, Zhou B L, Li Z P, Yin Y L, Jiang L L, Fu J W. Relationships between grafted eggplant's verticillium-resistance and rhizosphere soil Biological activity. Chinese Journal of Ecology, 2007, 26(6): 831-834.

[26] Li Y, Liu Q Y, Zhang Y L, Gao W, Yang B, Zhang Z. Study on effects of biogas fertilizer on soil enzyme and respiration intensity in protected field. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2007, (5): 44-47.

[27] Cai Y F, Liao Z W, Luo J, Li F. Characteristics of disease suppression and microorganisms in different texture soils. Journal of Agro-environmental Science, 2003, 22(5): 553-556.

[28] Cai Y F, Liao Z W, Zhang J E, Kong W D, He C X. Effect of ecological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial Diversities. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(3): 349-353.

[29] Cai Y F, Liao Z W. Effect of fertilization on the control of tomato bacterial wilt and soil health restoration using FAME Analysis. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(8): 922-927.

[30] Höper H, Steinberg C, Alabouvette C. Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to fusarium wilt of flax. Soil Biology and Biochemistry, 1995, 27(7): 955-967.

[31] Irikiin Y, Nishiyama M, Otsuka S, Senoo K R. Bacterial community-level, sole carbon source utilization pattern affects the delay in the bacterial wilt of tomato grown in rhizobacterial community model system. Applied Soil Ecology, 2006, 34(1): 27-32.

[32] Hasna M K, Mårtensson A, Persson P, Rämert B. Use of composts to manage corky root disease in organic tomato production. Annals of Applied Biology, 2007, 151(3): 381-390.

[33] Bending G D, Turner M K, Jones J E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(8): 1073-1082.

[34] Xu H Q, Xiao R L, Zhou D S, Song T Q, Luo W, Li S H. Effects of long-term fertilization on functional diversity of soil microbial community of the tea plantation. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(8): 3355-3361.

参考文献:

[3] 方中达. 植病研究方法(第三版). 北京:中国农业出版社, 1998: 388

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

[6] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文, 朱永官, 王碧玲. 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. 生态学报, 2005, 25(9): 2291-2296.

[7] 赵娜, 蔡昆争, 汪国平, 王勇. 家畜堆肥诱导番茄对青枯病的抗性及其生理机制. 农业环境科学学报, 2008, 27(5): 2058-2063.

[8] 高芬, 马利平, 乔雄梧, 郝变青. 家畜沤肥浸渍液对蔬菜抗病性相关酶活性及叶绿素含量的影响. 华北农学报, 2003, 18(2): 60-62.

[9] 汪国平, 熊正葵, 林明宝. 印迹法用于鉴定番茄青枯病抗性的初步研究. 江西农业大学学报(自然科学版). 2003, 25(5): 780-782.

[10] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤微生物研究法. 北京:科学出版社, 1985: 268-269.

[11] 周礼恺, 张志明. 土壤酶活性的测定方法. 土壤通报, 1980(5), 37-38.

[12] 关松荫. 土壤酶及其研究方法. 北京:农业出版社, 1986: 275-276.

[15] 马克平, 刘玉明. 生物群落多样性的测度方法　Ⅰ. α 多样性的测度方法(下). 生物多样性. 1994, 2(4): 231-239.

[16] 徐华勤, 肖润林, 宋同清, 罗文, 任全, 黄瑶. 稻草覆盖与间作三叶草对丘陵茶园土壤微生物群落功能的影响. 生物多样性, 2008, 16(2): 166-174.

[18] 随学超, 卜崇兴, 郭世荣, 朱雨薇, 梁勇, 周静波. 基质中添加有机缓释肥对番茄青枯病防效的影响. 江苏农业科学, 2007(4): 85-88.

[19] 马利平, 乔雄梧, 高芬, 郝变青. 家畜沤肥浸渍液对青椒枯萎病的防治及作用机理. 应用与环境生物学报, 2001, 7(1): 84-87.

[21] 蔡昆争, 骆世明, 方祥. 水稻覆膜旱作对根叶性状、土壤养分和土壤微生物活性的影响. 生态学报, 2006, 26(6): 1903-1911.

[22] 杨玉盛, 何宗明, 俞新妥. 杉木林取代阔叶林后土壤生物学活性变化的研究. 应用与环境生物学报, 1997, 3(4): 313-318.

[23] 郝晶, 周宝利, 刘娜, 窦丽萍, 关小川, 叶雪凌. 嫁接茄子抗黄萎病特性与根际土壤微生物生物量和土壤酶的关系. 沈阳农业大学学报, 2009, 40(2): 148-151.

[24] 郑郁善, 黄宝龙. 福建含笑杉木混交林生物量和土壤肥力的研究. 南京林业大学学报, 1998, 22(2): 49-52.

[25] 李云鹏, 周宝利, 李之璞, 尹玉玲, 姜玲玲, 付亚文. 嫁接茄的黄萎病抗性与根际土壤生物学活性的关系. 生态学杂志, 2007, 26(6): 831-834.

[26] 李轶, 刘庆玉, 张玉龙, 高微, 杨波, 张镇. 沼肥对保护地土壤酶及其呼吸强度的影响. 中国土壤与肥料, 2007, (5): 44-47.

[27] 蔡燕飞, 廖宗文, 罗洁, 李锋. 不同质地土壤抑病性和微生物特征. 农业环境科学学报, 2003, 22(5): 553-556.

[28] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 孔维栋, 何成新. 生态有机肥对番茄青枯病及土壤微生物多样性的影响. 应用生态学报, 2003, 14(3): 349-353.

[29] 蔡燕飞, 廖宗文. FAME 法分析施肥对番茄青枯病抑制和土壤健康恢复的效果. 中国农业科学, 2003, 36(8): 922-927.

[34] 徐华勤, 肖润林, 邹冬生, 宋同清, 罗文, 李盛华. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, 2007, 27(8): 3355-3361.