

中国百种杰出学术期刊
中国精品科技期刊
中国科协优秀期刊
中国科学院优秀科技期刊
新中国 60 年有影响力的期刊
国家期刊奖

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

(Shengtai Xuebao)

第 31 卷 第 4 期
Vol.31 No.4
2011



中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 4 期 2011 年 2 月 (半月刊)

目 次

短期增温对青藏高原高寒草甸植物群落结构和生物量的影响	李 娜,王根绪,杨 燕,等 (895)
三峡库区 9 种植物种子萌发特性及其在植被恢复中的意义	陶 敏,鲍大川,江明喜 (906)
白蜡虫及其 3 种优势寄生蜂的时空生态位	王自力,陈 勇,陈晓鸣,等 (914)
宁夏盐池荒漠草原步甲物种多样性	贺 奇,王新谱,杨贵军 (923)
脂肪酸对中华哲水蚤摄食两种海洋微藻的指示作用	刘梦坛,李超伦,孙 松 (933)
安徽菜子湖大型底栖动物的群落结构特征	徐小雨,周立志,朱文中,等 (943)
乐清湾潮间带大型底栖动物群落分布格局及其对人类活动的响应	彭 欣,谢起浪,陈少波,等 (954)
海蜇养殖对池塘底泥营养盐和大型底栖动物群落结构的影响	冯建祥,董双林,高勤峰,等 (964)
竹巴笼矮岩羊 (<i>Pseudois schaeferi</i>) 昼间行为节律和时间分配	刘国库,周材权,杨志松,等 (972)
干热河谷植物叶片,树高和种子功能性状比较	郑志兴,孙振华,张志明,等 (982)
石羊河中游沙漠化逆转过程土壤种子库的动态变化	马全林,张德魁,刘有军,等 (989)
基于 TM 影像、森林资源清查数据和人工神经网络的森林碳空间分布模拟	汪少华,张茂震,赵平安,等 (998)
山地视觉景观的 GIS 评价——以广东南昆山国家森林公园为例	裴亦书,高 峻,詹起林 (1009)
基于功能分类的城市湿地公园景观格局——以西溪湿地公园为例	李玉凤,刘红玉,郑 因,等 (1021)
水分胁迫下丛枝菌根 AM 真菌对民勤绢蒿生长与抗旱性的影响	贺学礼,高 露,赵丽莉 (1029)
农田灌溉对印度区域气候的影响模拟	毛慧琴,延晓冬,熊 喆,等 (1038)
高大气 CO ₂ 浓度下小麦旗叶光合能量利用对氮素和光强的响应	张绪成,于显枫,马一凡,等 (1046)
豌豆过氧化氢酶在烟草叶绿体中的过量表达提高了植物的抗逆性	王凤德,衣艳君,王海庆,等 (1058)
不同小麦品种对低温胁迫的反应及抗冻性评价	王树刚,王振林,王 平,等 (1064)
基于遥感与模型耦合的冬小麦生长预测	黄 彦,朱 艳,王 航,等 (1073)
喷施 ABA 对两个穗型不同小麦穗颈节伤流、穗部性状及产量的影响	崔志青,尹燕枰,田奇卓,等 (1085)
“稻鸭共生”生态系统稻季 N、P 循环	张 帆,隋 鹏,陈源泉,等 (1093)
红壤丘陵区粮食生产的生态成本	李 晓,谢永生,张应龙,等 (1101)
甘南牧区草畜平衡优化方案与管理决策	梁天刚,冯琦胜,夏文韬,等 (1111)
黄龙钙化滩流地物种-面积关系	黄宝强,罗毅波,安德军,等 (1124)
杉木人工林细根寿命的影响因素	凌 华,袁一丁,杨智杰,等 (1130)
长白落叶松林龄序列上的生物量及碳储量分配规律	巨文珍,王新杰,孙玉军 (1139)
生物肥与甲壳素和恶霉灵配施对香蕉枯萎病的防治效果	张志红,彭桂香,李华兴,等 (1149)
北京城区不同水质水体可培养细菌数量的季节动态变化	高 程,黄满荣,陶 爽,等 (1157)
专论与综述	
整树水力导度协同冠层气孔导度调节森林蒸腾	赵 平 (1164)
植物寄生对生态系统结构和功能的影响	李钧敏,董 鸣 (1174)
加拿大一枝黄花的入侵机理研究进展	杨如意,咎树婷,唐建军,等 (1185)

生物肥与甲壳素和恶霉灵配施对香蕉枯萎病的防治效果

张志红, 彭桂香, 李华兴*, 蔡燕飞, 张新明, 赵兰凤

(华南农业大学资源环境学院, 广州 510642)

摘要:通过盆栽试验研究了生物肥与甲壳素和恶霉灵配施防治香蕉枯萎病效果, 试验结果表明, 生物肥与恶霉灵配施(H + F)处理香蕉枯萎病病情指数最高, 生物肥与甲壳素配施(C + F)处理病情指数最低。单独生物肥处理防病效果为 32.8%, 生物肥与甲壳素配施处理为 42.5%, 而生物肥与恶霉灵配施加重了香蕉枯萎病病情。Biolog Eco 微平板研究发现, AWCD(平均每孔颜色变化率)和 Shannon 等 4 个多样性指数变化趋势与防病效果相反: 防病效果好的处理, 土壤细菌功能多样性指数反而低, 经检测发现病原真菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)可利用 Biolog Eco 微平板上碳源底物并发生颜色变化, 干扰测定结果。T-RFLP 分析土壤细菌 DNA 多样性, 对照(灭菌生物肥)土壤中 TRFs 末端限制性片段最少, 生物肥与甲壳素配施处理最多。与网上数据库比较, 生物肥与甲壳素配施增加了土壤中芽胞杆菌种类, 与恶霉灵配施降低了芽胞杆菌种类。分析发现, T-RFLP 和 Biolog 的主成份分析载荷图具有较高一致性。因此, 生物肥与生物农药甲壳素配施, 从生态角度控制土传病害, 优势互补, 提高了土壤细菌多样性, 改善了土壤细菌群落结构, 有利于提高防病效果。

关键词:香蕉枯萎病; 生物肥; 土壤细菌多样性; 芽胞杆菌; 防病效果

Effects on controlling banana *Fusarium* wilt by bio-fertilizer, chitosan, hymexazol and their combinations

ZHANG Zhihong, PENG Guixiang, LI Huaxing*, CAI Yanfei, ZHANG Xinming, ZHAO Lanfeng

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

Abstract: The control effect of banana *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, Foc) by bio-fertilizer (F), chitosan degrading liquid (C), hymexazol (H) and their combinations was studied. The soil bacterial community diversity was investigated by Biolog Eco plate and T-RFLP techniques under pot experiment. The results showed that banana *Fusarium* wilt index in the treatment of the combination of bio-fertilizer and hymexazol (H + F) was the highest, and the lowest in the combination of bio-fertilizer and chitosan degrading liquid (C + F), compared with the sterilized bio-fertilizer treatment (CK). The control effect of C + F treatment was 42.0%, higher than that of single bio-fertilizer (32.8%). However, The treatment of H + F increased the severity of *Fusarium* wilt. The average well color development (AWCD) in Biolog plate indicated the ability of carbon utilization of microbial communities, while the indices of Shannon, Simpson and McIntosh were calculated to show the richness, dominance and evenness of the functional diversity. The changes of AWCD and diversity indices (including to Shannon *H*, Simpson *D*, McIntosh *U*) were negatively correlated with the control effect in different treatments. The better effect of controlling disease showed the lower microbial diversity indices in soils, which further studied by the comparison of AWCD in three samples, including the soil (S), banana pathogenic fungi (Foc) and the mixture of soil and banana pathogenic fungi (S + Foc) by Biolog Eco plate and bacterial identification plate (patent publication number: CN101200755). The results suggested that the pathogenic fungal Foc utilized some carbon substrates

基金项目:国家自然科学基金项目(40971155); 广东省教育部产学研结合项目(2009B090300330); 广东省科技计划项目(2006B20301050)

收稿日期:2009-12-29; **修订日期:**2010-06-29

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

well in two plates, which interfered the final color reaction. Therefore, the type and population of pathogens may be considered in the determination of the soil bacterial community functional diversity by Biolog plate. T-RFLP results demonstrated that the number of terminal restriction fragments (TRFs) was the lowest in CK treatment, and the highest in C + F, which meant the better effect of controlling disease with the higher soil bacterial genetic diversity. Compared T-RFLP information with database on the website, the soil bacterial communities traits in the treatments of C + F and F contained the more *Bacillus* species (the numbers were 17 and 15, respectively) than H + F and CK (3 and 4, respectively) in soil, which implied that the more *Bacillus* species could be used as effective functional microbes on controlling banana Fusarium wilt. The Biolog and T-RFLP shared the same distribution characteristics by the loadings of principal component analysis (PCA) in treatments, F and C + F were nearer in the space. The combination of bio-fertilizer with chitosan degrading liquid, a kind of bio-pesticides, could effectively control banana Fusarium wilt by enhancing the soil bacterial diversity and improving the community structure, especially the changes of population and diversity of *Bacillus* spp.

Key Words: banana Fusarium wilt; bio-fertilizer; soil bacterial diversity; *Bacillus*; control effect

香蕉枯萎病(banana Fusarium wilt)也称为巴拿马病、黄叶病,是世界范围内分布广、毁灭性最强的植物病害之一^[1],是由尖孢镰刀菌古巴专化型[*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder and Hansen]引起的土传病害。香蕉枯萎病具有很强传染性,一旦扩散蔓延难以控制,严重时甚至整个香蕉园都遭到毁灭。目前香蕉枯萎病防治方法包括选育抗病品种、化学防治、生物防治以及采取适当农业措施等,在不同防治方法中,生物防治是目前公认比较安全和有效防治措施,并且符合环境保护和有机食品要求。但是单纯生防菌防病速度慢,且效果不稳定,原因可能是生防菌作为外来菌受土壤条件影响大,不易在土壤中繁殖和发挥效果^[2]。国外研究者将生防菌与有机物质结合使用^[3-4],期望实现功能互补、作用持久的防病效果。

生物肥是本实验室开发的一种多功能生物肥料,是用功能菌与有机堆肥制备而成,功能菌在堆肥形成“基质”环境下能更好发挥作用,具有促生和防病双重效果^[5],后茬生物效应依然明显^[6-7]。为提高生物肥控制香蕉枯萎病效果,本文选用恶霉灵和甲壳素两种性质不同的农药与生物肥配施。恶霉灵是一种广谱杀菌剂,对多种病原真菌引起的植物病害有较好抑病作用,平板上明显抑制香蕉枯萎病病原菌孢子萌发与菌丝生长^[8-9],室内模拟和盆栽试验也验证了恶霉灵控制香蕉枯萎病效果^[10]。甲壳素或甲壳素降解液对病原真菌有抑制作用^[11],并且已应用在多种作物枯萎病防治上^[12-14],是一种安全生物农药。本文通过生物肥与化学农药和生物农药配施,分析不同组合方式对土壤细菌多样性和群落结构影响,揭示土壤微生物与香蕉枯萎病防治关系,为提高香蕉枯萎病防治效果提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

生物肥:以腐熟有机堆肥为吸附载体,自然风干后加入解磷、解钾和拮抗功能芽胞杆菌(巨大芽胞杆菌 *Bacillus megaterium*、胶质芽胞杆菌 *Bacillus mucilaginosus* 和枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis*),该生物肥基本特征:全 N(N) 21.30 g/kg,全 P(P₂O₅) 15.30 g/kg,全 K(K₂O) 21.40 g/kg,3 种功能细菌总数为 0.73×10^8 CFU/g,普通细菌总数 1.68×10^8 CFU/g。

甲壳素:本实验室研制的 10% 甲壳素降解液,由 4 株芽胞杆菌(*Bacillus* spp.)和一株酵母菌联合降解而成。使用前检测细菌含量为 6.8×10^7 CFU/mL,检测不到酵母菌。

恶霉灵:98% 恶霉灵可湿性粉剂,有效成份为 3-羟基-5-甲基异恶唑。

病原菌:尖孢镰刀菌古巴专化型 4 号生理小种(Foc),由华南农业大学资源环境学院植物病理系姜子德教授提供。

香蕉:巴西蕉(*Musa acuminata* AAA Cavendish cv. Brazil),沙床苗,由广东省农业科学院果树研究所提供。

土壤:采自华南农业大学农场蔬菜地,主要理化性质:砂壤土,有机质含量 19.00 g/kg;pH 7.25;全 N、P、K 分别为 1.26 g/kg、0.51 g/kg 和 23.88 g/kg。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设计和操作

试验采用盆栽方式,2009 年 9 月在华南农业大学资源环境学院网室内进行。试验共设 4 个处理:处理 1 为对照(CK),灭菌生物肥;处理 2 为生物肥(F);处理 3 为生物肥与恶霉灵配施(H + F),处理 4 为生物肥与甲壳素配施(C + F)。供试塑料盆大小为高 14cm,直径 18cm,每盆装风干土 2.5kg。生物肥用量为每公斤干土加 8g,全部作为底肥与土混匀。土壤浇水平衡 5d 后移栽香蕉,选择生长大小一致蕉苗移植。每盆种植 2 株蕉苗,每处理有 12 盆,每 4 盆为 1 组。香蕉移栽 5d 后采用伤根浇入法接种病原菌,病原菌菌液中分生孢子浓度为每 mL 10^5 个,每盆 10mL。处理 3 同时浇入稀释 3000 倍恶霉灵 20mL(浓度和用量参考说明书),处理 4 浇入稀释 5 倍的甲壳素降解液 20mL。观察香蕉生长和枯萎病发生情况,生长 60d 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相关文献^[15]。取蕉苗根际土壤分析微生物多样性和群落结构。

1.2.2 土壤细菌 Biolog Eco 微平板分析

Biolog 操作过程以及多样性指数计算参见文献^[16-17]。

1.2.3 土壤细菌 T-RFLP 分析

提取土壤 DNA 用美国 MO-BIO 公司试剂盒(UltraClean™ Soil DNA Isolation Kit),具体操作见说明书。细菌 PCR 扩增引物:

正向引物(8-27F) 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3',

反向引物(1378-1401R) 5'-CGGTGTGTACAAGGCCCGGAAC-3',其中正向引物 5'端用 6-羧基二乙酸荧光素(FAM)标记。PCR 扩增和 *Hha* I 酶切条件参照 Lukow 等文献资料^[18]。酶切产物由上海基康生物技术有限公司测试,结果中包含了酶切后末端限制性片段(TRFs),把信息上传至 <http://trflp.limnology.wisc.edu/assignment.jsp>,查询并比较处理之间细菌多样性和群落结构差异。将碱基小于 40bp 以及相对丰度(根据峰面积计算) < 1% TRFs 排除,相对丰度计算公式: $A_i = n_i/N \times 100\%$,式中 A_i 表示片段 i 相对面积, n_i 表示该片段图谱面积, N 表示 i 所在 T-RFLP 图谱总面积^[19]。

1.2.4 Foc 对 Biolog 分析土壤细菌多样性干扰

取 PDA 平板上生长 10d 左右香蕉枯萎菌(*Foc*),用无菌 0.85% NaCl 洗脱表面制备成孢子悬液,调整孢子浓度到 590nm 吸光值为 0.1 左右^[20]。取上述一个处理土壤样品,稀释到 10^{-3} 。将土壤和 *Foc* 稀释液 1:1 混合(S + *Foc*),同时将 *Foc* 和土壤稀释液用无菌 0.85% NaCl 再分别稀释 1 倍备用。3 种稀释液加到 Biolog Eco 微平板和华南农业大学谭志远教授细菌鉴定试剂盒(专利公开号:CN101200755)。

1.3 数据分析

所有试验数据用 Excel 2003 和 SAS V8 统计软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对香蕉枯萎病防病效果的影响

从不同处理香蕉病情指数情况看(图 1),生物肥与恶霉灵配施(H + F)处理的香蕉病情指数最高,其次

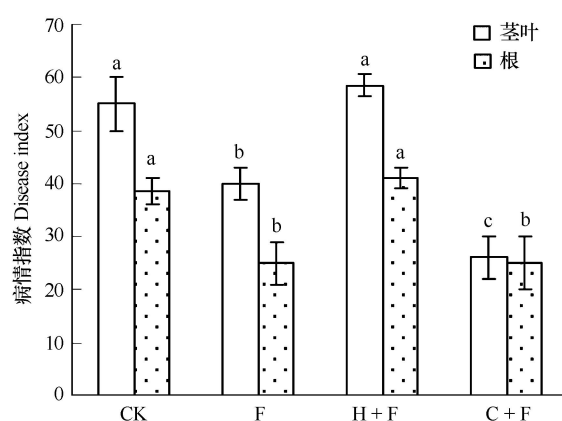


图 1 不同处理香蕉病情指数

Fig. 1 Disease index of banana in different treatments

图中不同字母表示在 0.05 水平上处理之间差异达到显著性; CK: 灭菌的生物肥, F: 生物肥, H + F: 生物肥与恶霉灵配施, C + F: 生物肥与甲壳素配施

是 CK, 它们之间的差异没有达到显著性。生物肥与甲壳素配施 (C + F) 处理的病情指数最低, 与 H + F 和 CK 比较, 差异达到显著性, 与单独生物肥 (F) 比较, 差异不显著。根据公式计算防病效果, F 处理为 32.8%, C + F 处理为 42.5%, 而 H + F 处理为负值。因此, 施用生物肥对香蕉枯萎病有一定控制效果, 生物肥与甲壳素配施后能更好地控制病情, 防病效果得到加强; 相反与恶霉灵配施, 病情反而加重。

2.2 不同处理对土壤细菌功能多样性的影响

Biolog 微平板分析技术开始主要用于异养细菌分类、鉴定, 之后大量应用于环境微生物群落变化研究。平均每孔颜色变化率 (average well color development, AWCD) 作为微生物整体活性有效指标, 可反映微生物群落对碳源利用总能力和功能多样性^[16,21]。试验结果显示 (图 2), H + F 处理始终显著高于其它处理, CK、F 和 C + F 在 60h 之后数值接近, 但是 36h 和 48h 测定结果中 CK 显著高于其它两个处理, F 和 C + F 之间差异较小。比较不同处理防病效果和 AWCD, 在本试验条件下, 两者变化趋势相反, 即防病效果好的处理, AWCD 相对较低。比较 72h AWCD 和 Shannon 等微生物多样性指数 (表 1), 4 个值变化趋势基本一致: H + F 处理显著高于其它处理, F 和 C + F 相对较低。这一结果表明, 病情指数最高、防病效果最差的处理, 反而对碳源底物利用能力较强。

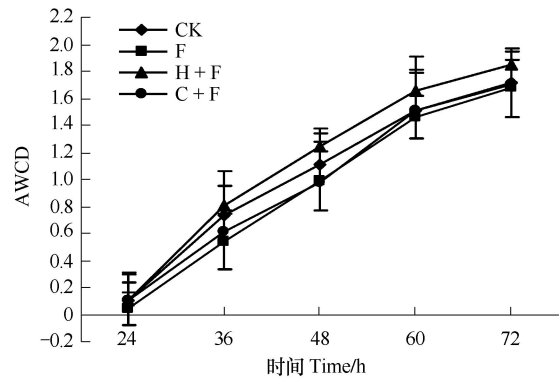


图 2 不同处理 AWCD 随培养时间变化曲线

Fig. 2 AWCD changes with incubation time in different treatments

表 1 不同处理 AWCD 和微生物多样性指数

Table 1 AWCD and microbial diversity index in different treatments (72h)

处理 Treatment	AWCD	Shannon 指数 Shannon index <i>H</i>	Simpson 指数 Simpson index <i>D</i>	McIntosh 指数 McIntosh index <i>U</i>
CK	1.72b	3.23b	0.237b	10.87b
F	1.67b	3.22b	0.234b	10.65c
H + F	1.85a	3.30a	0.255a	11.30a
C + F	1.70b	3.22b	0.235b	10.55c

同一列中具有不同字母表示在 0.05 水平上差异显著

对 72 h 的 Biolog 板上 31 种碳源底物进行主成份分析 (principal component analysis, PCA), 提取 2 个因子作载荷图 (图 3), 不同处理在主成份因子上有明显差异: F 和 C + F 靠近, CK 和 H + F 在 PC2 正端方向, 而在 PC1 方向上相反, 表明不同处理土壤微生物群落结构特征存在一定共性和差异性, 防病效果好的处理分布距离较近, 而 H + F 与 CK 之间差异较大。

2.3 不同处理对土壤细菌 DNA 多样性和群落结构的影响

Hha I 酶切后图谱上每一个 TRFs 至少代表一种细菌, 条带数量反映土壤细菌种类多寡, 峰面积大小反映相对含量。分析发现, CK 相对丰度大于 1% TRFs 数目为 24 条, H + F 为 26 条, F 和 C + F 分别为 26 和 29。因此, C + F 处理中土壤细菌种类最多, CK 最少, F 和 H + F 相同。将不同片段分类, 按照相对丰度大小比较 (图 4), 小于 200bp 的 TRFs 相对丰度最大, 表明土壤中大部分细菌 TRFs 片段分布在此位置, 结果与文献报道

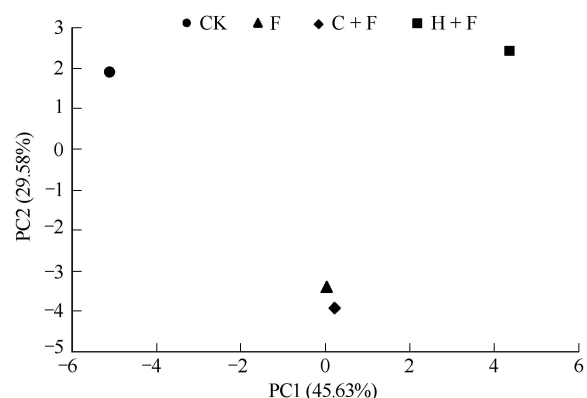


图 3 不同处理 AWCD 主成分分析载荷图 (72h)

Fig. 3 Loadings of principal component analysis of AWCD in different treatments

相似^[19]。H + F 和 C + F 处理中含有大于 600bp 的 TRFs,可能是刺激了土壤中某些细菌的繁殖,具体菌种名称还有待进一步分析。对不同 TRFs 片段的相对丰度进行主成份分析(图 5),结果表明,F 和 C + F 分布在相同区域,CK 和 H + F 分布于不同区域。比较两种方法的主成份分析图谱结果,具有较高一致性。

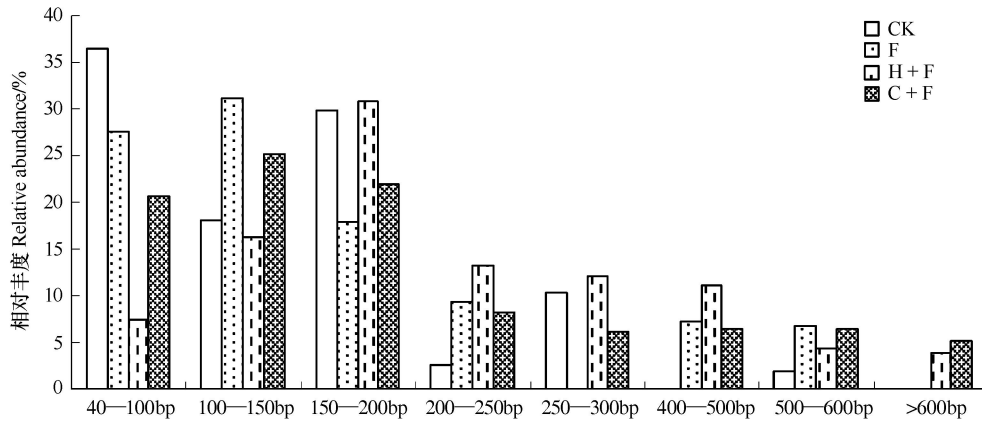


图 4 不同处理 TRFs 片段相对丰度比较

Fig. 4 Relative abundance analysis of TRFs in different treatments

比较土壤细菌群落结构差异,耐热解纤维素细菌较普遍,如 *Capnocytophaga* spp. 和 *Cytophaga* spp. 等,但是处理之间差异不大。分析发现芽胞杆菌 (*Bacillus* spp.) 差异最明显,CK 中可能存在的芽胞杆菌仅有 3 种(表 2),H + F 为 4 种,F 和 C + F 分别为 15 和 17 种,并且都包含枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtilis*)。芽胞杆菌中,多数具有潜在拮抗作用^[22]。因此,施用生物肥提高了土壤中芽胞杆菌种类,与甲壳素配施,种类更多,与恶霉灵配施,芽胞杆菌种类锐减。

2.4 Foc 对不同碳源底物利用情况

单独考察香蕉枯萎病原菌 (Foc) 对不同碳源底物利用情况,结果发现,此病原菌可以利用 Biolog 板上多种碳源底物,31 种底物中对 17 种利用能力较高。香蕉病原菌与土壤混合样 (S + Foc) 的 AWCD 值比单独土壤稀释样 (S) 高(图 6),结果表明病原菌可提高样品中微生物利用碳源底物能力,因此,势必干扰细菌在 Biolog 微平板上显色反应。谭志远教授细菌鉴定板中底物是菌种鉴定常用碳源,该鉴定板原理和 Biolog Eco 板相似,Foc 也能高效利用某些碳源底物(图 7),S + Foc 处理颜色变化孔数比 S 多。

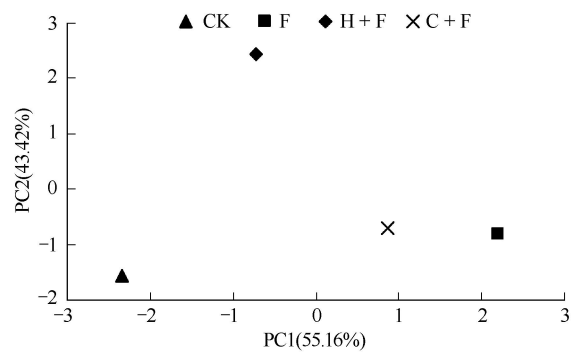


图 5 不同处理 TRFs 片段主成份分析载荷图

Fig. 5 Loadings of principal component analysis of TRFs in different treatments

表 2 T-RFLP 分析不同处理土壤中可能存在的芽胞杆菌种类

Table 2 Possible existing *Bacillus* spp. in soil in different treatments by T-RFLP

处理 Treatment	芽胞杆菌 <i>Bacillus</i> spp.
CK	<i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus fusiformis</i> , <i>Bacillus sphaericus</i>
F	<i>Bacillus alcalophilus</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus badius</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus benzoovorans</i> , <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus vortex</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus fastidiosus</i> , <i>Bacillus fusiformis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus macroides</i> , <i>Bacillus methanolicus</i> , <i>Bacillus thermoleovorans</i> , <i>Bacillus tipchiralis</i>
H + F	<i>Bacillus arsenicoselenatis</i> , <i>Bacillus sphaericus</i> , <i>Bacillus tipchiralis</i> , <i>Bacillus vortex</i>
C + F	<i>Bacillus alcalophilus</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus arsenicoselenatis</i> , <i>Bacillus badius</i> , <i>Bacillus benzoovorans</i> , <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus fastidiosus</i> , <i>Bacillus fusiformis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus macroides</i> , <i>Bacillus methanolicus</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus sphaericus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus thermoleovorans</i> , <i>Bacillus tipchiralis</i> , <i>Bacillus vortex</i>

3 讨论

现代农业由于种植制度和施肥措施不合理,导致土传病害大面积爆发,通过施用有机肥可以有效控制土传病害^[23-26]。蔡燕飞等研究发现施用生态有机肥能增强土壤生态系统稳定性^[27],抑制番茄青枯病发生。堆肥不仅腐殖质含量高,且还有大量有益微生物^[28],研究发现将堆肥与枯草芽孢杆菌、多粘芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)、棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)等生防微生物结合后防病效果更好^[29-30]。本试验所用堆肥中有30多种细菌对Foc有明显拮抗作用,且60%以上为芽孢杆菌,堆肥吸附功能细菌制成生物肥,既有高含量功能芽孢杆菌,又包含堆肥本身细菌,是专一性和多样性有益细菌的结合体。生物肥与生物农药甲壳素配施,一方面增加了土壤中芽孢杆菌种类,另外甲壳素降解液中的几丁质酶对病原真菌也有抑制作用,因此两种生物制剂配施,优势互补,提高了防病效果。生物肥与化学农药恶霉灵配施,尽管用量在安全使用范围内,但是防病

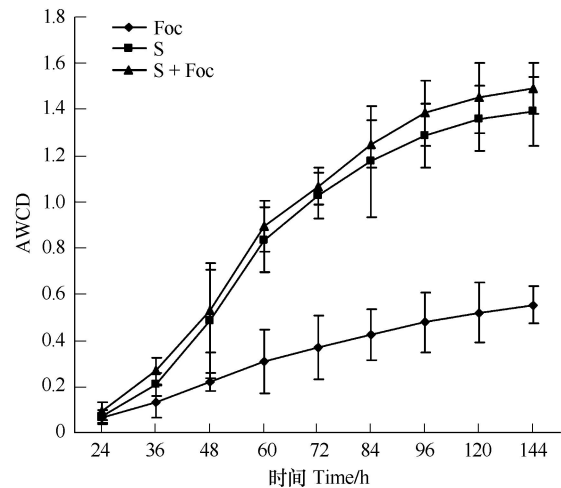


图6 不同温育时间 Foc 与土壤在 Biolog 板上 AWCD 变化

Fig. 6 AWCD changes with incubation time in three treatments in Biolog plate

S: 土壤稀释样; Foc: 香蕉病原菌; S + Foc: 香蕉病原菌与土壤稀释样混合

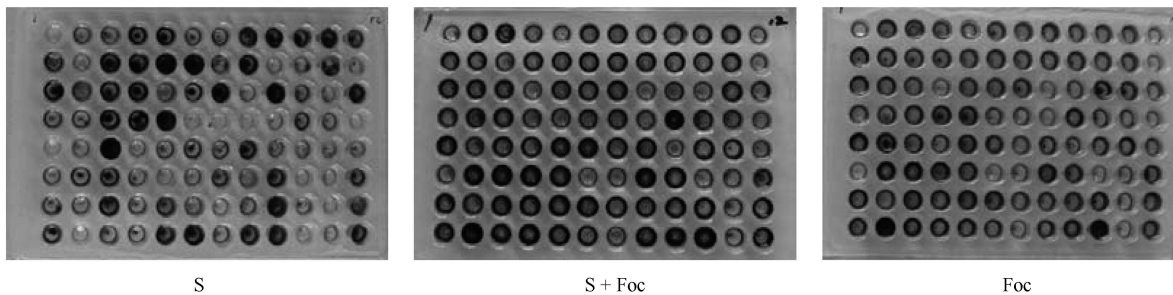


图7 细菌鉴定试剂盒上不同处理对碳源利用情况比较

Fig. 7 Comparison of carbon substrates utilization in different treatments in bacterial identification plate

效果并没有提高,与农药施用时期和破坏土壤微生物群落结构有关。通过分析施肥特点和土壤微生物特征,提高芽孢杆菌等有益细菌种类和活性对抑制枯萎病十分关键^[26,31-32],王汝贤等研究棉花抗枯萎病品种连作田微生物变化也发现根际芽孢杆菌多样性较高^[33]。因此,在防治香蕉枯萎病研究上,可筛选更多芽孢杆菌作生防菌。

抑制土传病害需要依赖土壤微生物群体作用,土壤微生物群落结构越丰富、物种越均匀、多样性越高时,抑制病原菌能力越强。因此,客观分析土壤微生物多样性变化以及微生物群落结构特征是研究土传病害关键问题。Biolog 方法快速、简便,已成为分析土壤微生物群落功能多样性常规方法,其中 Biolog GN 或 Eco 板主要反映土壤中细菌多样性变化,但本文以及文献报道发现某些真菌可利用 Biolog GN 或 Eco 板上碳源底物并发生显色反应^[20]。因此,Biolog 颜色变化除了与土壤细菌多样性有关,还受土壤真菌影响。文献报道 AWCD 与防病效果相关:AWCD 越高,防病效果越好^[22,35]。但是本文通过两种类型微平板验证发现,AWCD 除了与土壤细菌多样性密切相关,还要考虑病原菌影响,当香蕉病情严重、Foc 较多时,凸显出对 AWCD 干扰。T-RFLP 首先由 Liu 等在 1997 年用于微生物多态性研究^[36],现已成功应用于各种微生物群落分析比较、研究微生物群落多样性及结构特征等多方面。本文 T-RFLP 分析发现,土壤细菌多样性与防病效果之间存在一定关系:防病效果好的 F 和 C + F 处理中土壤细菌 TRFs 片段多,芽孢杆菌种类也多。因此,生物肥与生物农药配

施不仅提高了土壤细菌多样性,更改善了土壤细菌群落特征,与 Ana 等研究黑松树纹枯病(*Rhizoctonia solani*)结果相似^[37]。本文仅采用了两种技术研究土壤细菌多样性,以后可结合基因芯片、稳定同位素探针等技术更深入、全面了解土壤微生物信息,为生态控制土传病害提供技术支撑。

致谢:华南农业大学谭志远教授提供细菌鉴定试剂盒并对写作给予帮助,特此致谢。

References:

- [1] Wei Y R, Huang B Z, Yang H, Xu L B, Qiu J S. Advances in research of Fusarium wilt disease of banana. Journal of Fruit Science, 2005, 22 (2): 154-159.
- [2] Getha K, Vikineswary S, Wong W H, Seki T, Ward A, Goodfellow M. Evaluation of *Streptomyces* spp. strain g10 for suppression of Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2005, 32: 24-32.
- [3] Satheesh S, Venu D V. Effect of various amendments and *Trichoderma viride* on the fusarial wilt of banana. Mysore Journal of Agricultural Sciences, 2004, 38: 546-550.
- [4] Saravanan T, Muthusamy M, Marimuthu T. Development of integrated approach to manage the fusarial wilt of banana. Crop Protection, 2003, 22: 1117-1123.
- [5] Zhang Z H, Li H X, Wei X H, Liu X, Peng G X. Influence of biological fertilizers on banana wilt disease and microorganisms in soil. Ecology and Environment, 2008, 17(6): 2421-2425.
- [6] Wei X H, Li H X, Feng H, Zhang Z H, Cia Y F, Chen Y Y. Effect of post-harvest soil after applying different fertilizers on soil microorganisms and maize growth. Journal of Soil and Water Conservation, 2009, 23(2): 138-141.
- [7] Zhao L F, Li H X, Gou W L, Zhang L J, Hu W, Li Y T. Effect of doses of compound biofertilizer on soil nutrients and crop growth. Soils, 2009, 41(2): 248-252.
- [8] Lin L W, Xi W P, Huang S H. Selection of fungicides for controlling banana blight resulted from *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Ecology and Environment, 2003, 12(2): 182-183.
- [9] Xu W Y, Wu X H, Wu G, Lin C H. "Time-Dose-Inhibition" model of the mixture of hymexazol and bromothalonil on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Journal of Henan University of Science and Technology: Natural Science Edition, 2005, 26(2): 68-72.
- [10] Nie S X. Effect of Compound Bio-fertilizer Combined with Hymexazol on Banana Wilt and Soil Microbes. Guang Zhou: South China Agricultural University, 2009.
- [11] Roller S, Covill N. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. International Journal of Food Microbiology, 1999, 47: 67-77.
- [12] Xu P. Isolation and Identification of Chitosan Degrading Bacteria and Inhibition of Bacteria Cultures to the Cucumber Blight Disease. Lanzhou: Lanzhou University, 2007.
- [13] Kim Y C, Jung H, Kim K Y, Park S K. An effective biocontrol bioformulation against phytophthora blight of pepper using growth mixtures of combined chitinolytic bacteria under different field conditions. European Journal of Plant Pathology, 2008, 120: 373-382.
- [14] Prapagdee B, Kotchadat K, Kumsopa A, Visarathanonth N. The role of chitosan in protection of soybean from sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Bioresource Technology, 2007, 98: 1353-1358.
- [15] Xu Z G. General Plant Pathology. Beijing: China Agricultural Press, 2002: 236-262.
- [16] Garland J L, Mills L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community level sole carbon source utilization. Applied Environment Microbiology, 1991, 57: 2351-2359.
- [17] Jeffrey S B, Donald D K. Microbial diversity in the rhizosphere of corn grown under conventional and low input systems. Applied Soil Ecology, 1996, 5: 21-27.
- [18] Lukow T, Dunfield P F, Liesack W. Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 32: 241-247.
- [19] Li G W, Li H, Yun J, Li X F, Chen J. Effect of pentachlorophenol (PCP) on bacterial community of an aerobic granular sludge estimated by T-RFLP. Environmental Science, 2006, 27, (4): 794-799.
- [20] Sammar K, Beatrix W. Utilization of carbon sources by *Pythium*, *Phytophthora* and *Fusarium* Species as determined by Biolog microplate assay. The Open Microbiology Journal, 2009, 3: 9-14.
- [21] Garland J L. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. Soil Biology & Biochemistry, 1996, 28: 223-230.
- [22] Li B, Xie G L, Chen R X, Huangfu W G, Liu B. Effects of cropping system and cultivation pattern on bacterial populations and anti-Fusarium wilt bacteria in melon soils. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(10): 1937-1940.
- [23] Yoshitaka S, Masaya N, Tomoko O. Comparison of bacterial community structures in the rhizosphere of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65: 3996-4001.
- [24] Janvier C, Villeneuve F, Alabouvette C, Edel-Hermann V, Mateille T, Steinberg C. Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators?. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39: 1-23.

- [25] Singh P K, Vyas D. Proceedings of the Indian National Science Academy Part B: Biological Sciences. New Delhi: Indian National Science Academy, 2009: 110-128.
- [26] Termorshuizen A J, van Rijn E, van der Gaag D J, Alabouvette C, Chen Y, Lagerlof J. Suppressiveness of 18 composts against 7 soilborne plant pathogens. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38: 2461-2477.
- [27] 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.
- [28] Dianez F, Santos M, Tello J C. Suppression of soilborne pathogens by compost: Suppressive effects of grape marc compost on *Phytopathogenic oomycetes*. *Acta Horticulture*, 2005, 69: 441-460.
- [29] Zhang S S, Raza W, Yang X M, Hu J, Huang Q W, Xu Y C, Liu X H, Ran W, Shen Q R. Control of Fusarium wilt disease of cucumber plants with the application of a bioorganic fertilizer. *Biology and Fertility of Soils*, 2008, 44: 1073-1080.
- [30] Cotxarrera L, Trillas-Gay M I, Steinberg C, Alabouvette C. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress Fusarium wilt of tomato. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34: 467-476.
- [31] Devendra K C, Bhavdish N J. Interactions of *Bacillus* spp. and plants-with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 2009, 164: 493-513.
- [32] Kloepper J W, Reddy M S, Kenney D S, Vavrina C, Kokalis-Burelle N, Martinez-Ochoa N. Theory and applications of rhizobacteria for transplant production and yield enhancement. Proceedings of the XXVI IHC-transplant production and stand establishment. Nicola S, Nowak J, Vavrina C S, eds. *Acta Horticulture*, 2004, 631: 217-219.
- [33] Wang R X, Yang Z W, Li Y Z, Wang Y. Changes of microflora and number of microorganisms on the monoculture of resistance cotton varieties. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 1998, 7(3): 54-58.
- [34] Li S H, Gu L P, Liu K X. Effects of combined application of organic fertilizers on the control of soilborne diseases and the regulation of soil microbial diversity. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15(4): 965-969.
- [35] Liu W T, Marsh T L, Cheng H, Forney L J. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63: 4516-4522.
- [36] Perez-Piqueres A, Edel-Hermann W, Alabouvette C, Steinberg C. Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38: 460-470.

参考文献:

- [1] 魏岳荣, 黄秉智, 杨护, 许林兵, 邱继水. 香蕉镰刀菌枯萎病研究进展. *果树学报*, 2005, 22(2): 154-159.
- [5] 张志红, 李华兴, 韦翔华, 刘序, 彭桂香. 生物肥料对香蕉枯萎病及土壤微生物的影响. *生态环境*, 2008, 17(6): 2421-2425.
- [6] 韦翔华, 李华兴, 冯宏, 张志红, 蔡燕飞, 陈昀云. 不同肥料对后茬土壤微生物以及玉米生长的影响. *水土保持学报*, 2009, 23(2): 138-141.
- [7] 赵兰凤, 李华兴, 缙武龙, 张丽娟, 胡伟, 李永涛. 生物复混肥施用量对土壤养分以及作物生长的影响. *土壤*, 2009, 41(2): 248-252.
- [8] 林兰稳, 奚伟鹏, 黄赛花. 香蕉镰刀菌枯萎病防治药剂的筛选. *生态环境*, 2003, 12(2): 182-183.
- [9] 许文耀, 兀旭辉, 吴刚, 林成辉. 恶霉灵-溴菌腈混剂对香蕉枯萎病菌抑制作用的研究. *河南科技大学学报(自然科学版)*, 2005, 26(2): 68-72.
- [10] 聂盛仙. 生物复混肥配施恶霉灵对香蕉枯萎病和土壤微生物影响. 广州: 华南农业大学, 2009.
- [12] 徐鹏. 壳聚糖分解细菌的分离鉴定以及壳聚糖分解液对黄瓜枯萎病的防治. 兰州: 兰州大学, 2007.
- [15] 许志刚主编. 普通植物病理学. 北京: 中国农业出版社, 2002: 236-262.
- [19] 李光伟, 刘和, 云娇, 李秀芬, 陈坚. 应用 T-RFLP 技术研究五氯酚对好氧颗粒污泥中细菌组成的影响. *环境科学*, 2006, 27, (4): 794-799.
- [22] 李斌, 谢关林, 陈若霞, 皇甫伟国, 刘波. 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. *应用生态学报*, 2006, 17(10): 1937-1940.
- [27] 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.
- [33] 王汝贤, 杨之为, 李有志, 王瑶. 棉花抗枯萎病品种连作田微生物数量变化. II. 棉花枯萎病抑病土成因. *西北农业学报*, 1998, 7(3): 54-58.
- [34] 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. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(4): 965-969.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 4 February, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Short-term effects of temperature enhancement on community structure and biomass of alpine meadow in the Qinghai-Tibet Plateau	LI Na, WANG Genxu, YANG Yan, et al (895)
Effects of submergence on seed germination of nine annual plant species in the Three Gorges Reservoir region and their implication to vegetation restoration	TAO Min, BAO Dachuan, JIANG Mingxi (906)
Temporal-spatial niches of Chinese White Wax Scale insect (<i>Ericerus pela</i>) and its three dominant parasitoid wasps	WANG Zili, CHEN Yong, CHEN Xiaoming, et al (914)
Species diversity of carabid beetles in desert-steppe in Yanchi of Ningxia, China	HE Qi, WANG Xinpu, YANG Guijun (923)
Identification of trophic relationships between marine algae and the copepod <i>Calanus sinicus</i> in a fatty acid approach	LIU Mengtan, LI Chaolun, SUN Song (933)
Community structure of macrozoobenthos in Caizi Lake, China	XU Xiaoyu, ZHOU Lizhi, ZHU Wenzhong, et al (943)
The community distribution pattern of intertidal macrozoobenthos and the responses to human activities in Yueqing Bay	PENG Xin, XIE Qilang, CHEN Shaobo, et al (954)
The effects of jellyfish (<i>Rhopilema esculentum</i> Kishinouye) farming on the sediment nutrients and macrobenthic community	FENG Jianxiang, DONG Shuanglin, GAO Qinfeng, et al (964)
Diurnal activity rhythm and time budgets of the Dwarf Blue Sheep (<i>Pseudois schaeferi</i>) in Zhubalong Nature Reserve	LIU Guoku, ZHOU Caiquan, YANG Zhisong, et al (972)
Comparison of leaf, height and seed functional traits of species in dry-hot valleys	ZHENG Zhixing, SUN Zhenhua, ZHANG Zhiming, et al (982)
Dynamics of soil seed banks in the reversion process of desertification in the middle reaches of the Shiyang River	MA Quanlin, ZHANG Dekui, LIU Youjun, et al (989)
Modelling the spatial distribution of forest carbon stocks with artificial neural network based on TM images and forest inventory data	WANG Shaohua, ZHANG Maozhen, ZHAO Pingan, et al (998)
The GIS-based visual landscape evaluation in mountain area: a case study of Mount Nan-kun National Forest Park, Guangdong Province	QIU Yishu, GAO Jun, ZHAN Qilin (1009)
A functional classification method for examining landscape pattern of urban wetland park: a case study on Xixi Wetland Park, China	LI Yufeng, LIU Hongyu, ZHENG Nan, et al (1021)
Effects of AM fungi on the growth and drought resistance of <i>Seriphidium minchinense</i> under water stress	HE Xueli, GAO Lu, ZHAO Lili (1029)
Modeled impact of irrigation on regional climate in India	MAO Huiqin, YAN Xiaodong, XIONG Zhe, et al (1038)
The responses of photosynthetic energy use in wheat flag leaves to nitrogen application rates and light density under elevated atmospheric CO ₂ concentration	ZHANG Xucheng, YU Xianfeng, MA Yifan, et al (1046)
Enhanced drought and photooxidation tolerance of transgenic tobacco plants overexpressing pea catalase in chloroplasts	WANG Fengde, YI Yanjun, WANG Haiqing, et al (1058)
Evaluation of wheat freezing resistance based on the responses of the physiological indices to low temperature stress	WANG Shugang, WANG Zhenlin, WANG Ping, et al (1064)
Predicting winter wheat growth based on integrating remote sensing and crop growth modeling techniques	HUANG Yan, ZHU Yan, WANG Hang, et al (1073)
Effects of spraying ABA on bleeding intensity in neck-panicle node, spike traits and grain yields of two different panicle-type winter wheat	CUI Zhiqing, YIN Yanping, TIAN Qizhuo, et al (1085)
Nitrogen and phosphorus cycling from rice-duck mutual ecosystem during late rice growth season	ZHANG Fan, SUI Peng, CHEN Yuanquan, et al (1093)
Initial exploration of the ecological costs of food production in the hilly red soil region of Southern China	LI Xiao, XIE Yongsheng, ZHANG Yinglong, et al (1101)
Optimization strategy and management decision-making in balancing forage and livestock in Gannan pastoral area	LIANG Tiangang, FENG Qisheng, XIA Wentao, et al (1111)
Species-area relationship in travertine area in Huanglong valley, Sichuan	HUANG Baoqiang, LUO Yibo, AN Dejun, et al (1124)
Influencing factors of fine root lifespans in two Chinese fir plantations in subtropical China	LING Hua, YUAN Yiding, YANG Zhijie, et al (1130)
Age structure effects on stand biomass and carbon storage distribution of <i>Larix olgensis</i> plantation	JU Wenzhen, WANG Xinjie, WANG Xinjie (1139)
Effects on controlling banana Fusarium wilt by bio-fertilizer, chitosan, hymexazol and their combinations	ZHANG Zhihong, PENG Guixiang, LI Huaxing, et al (1149)
Seasonal dynamics of culturable bacterium numbers in freshwater bodies of different water quality in Beijing	GAO Cheng, HUANG Manrong, TAO Shuang, et al (1157)
Review and Monograph	
On the coordinated regulation of forest transpiration by hydraulic conductance and canopy stomatal conductance	ZHAO Ping (1164)
Impacts of plant parasitism on structure and function of ecosystems	LI Junmin, DONG Ming (1174)
Invasion mechanisms of <i>Solidago canadensis</i> L.: a review	YANG Ruyi, ZAN Shuting, TANG Jianjun, et al (1185)

2009 年度生物学科总被引频次和影响力因子前 10 名期刊*

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响力因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响力因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任: 孔红梅

执行编辑: 刘天星 段 靖

生态学报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 4 期 (2011 年 2 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 4 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许可证	京海工商广字第 8013 号		

