

生物有机肥对番茄青枯病的防效研究及机理初探

肖相政, 刘可星, 廖宗文

(华南农业大学新肥料资源研究中心, 广东 广州 510642)

摘要:以有机废弃物堆置腐熟后添加枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌等功能菌制成两种生物有机肥 FBOF1 和 FBOF2, 采用盆栽试验方法, 研究了上述生物有机肥对番茄青枯病的防效, 同时对其作用机理进行了初步探讨。结果表明, 施用生物有机肥后, 番茄青枯病病情指数降低, 防病效果达 27.6%~69.0%, 与对照相比差异显著, 同时植株中多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶、过氧化物酶活性明显提高。96 h 时施用 FBOF1 和 FBOF2 处理的多酚氧化酶活性分别为 5.78、4.98 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 比对照高 53.7% 和 32.4%; 苯丙氨酸解氨酶活性 96 h 时分别为 1.56、0.77 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 比对照高 205.9% 和 51.0%; 对过氧化物酶活性而言, 96 h 时差异更为明显, 施用生物有机肥后其活性分别为 0.79、0.42 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 而对照仅为 0.14 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。此外, 施用生物有机肥后土壤微生物功能多样性提高, 从培养 48 h 的结果看, 15、25、40 d 的 AWCD 值都高于对照, 其中 FBOF2 第 40 d 时的 AWCD 值与对照相比差异显著, 分别为 1.010 7 和 0.505 3。从试验结果还可看出, 生物有机肥影响根围土壤中青枯菌和主要微生物类群数量, 施用生物有机肥后, 土壤中细菌和放线菌数量增加, 而青枯菌数量则明显下降。

关键词:生物有机肥; 番茄青枯病; 防治效果; 作用机理

中图分类号 S144.1 文献标志码 A 文章编号: 1672-2043(2009)11-2368-06

Disease-control Effect and Mechanism Research of Biological Organic Fertilizer on Tomato Bacterial Wilt

XIAO Xiang-zheng, LIU Ke-xing, LIAO Zong-wen

(New Fertilizer Resources Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Two kinds of biological organic fertilizer FBOF1 and FBOF2 were made based on the decomposed organic wastes, in which the functional bacteria such as *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* et al. were appended, and applied on the control of tomato bacterial wilt. Meanwhile, the working mechanism was researched. The results indicated that the disease index of tomato bacterial wilt decreased and the disease-control effect reached 27.6%~69.0% after utilizing the biological organic fertilizer, and the difference was obvious compared with the untreated. The activities of polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia lyase and peroxidase in plants improved. The activities of polyphenol oxidase for FBOF1 and FBOF2 were 5.78, 4.98 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ respectively in 96 h, and 53.7%, 32.4% higher than the untreated. For the phenylalanine ammonia lyase, the activities were 1.56, 0.77 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, and 205.9%, 51.0% higher compared with the untreated. However, for the peroxidase, the difference was more obvious, and the activities for FBOF1, FBOF2 reached 0.79, 0.42 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, whereas the untreated was 0.14 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ only. In addition, the soil microbiology diversity increased after applying the biological organic fertilizer. The results of cultivation for 48 h indicated that the treated AWCD of 15 d, 25 d, 40 d were all higher than the untreated, among which the 40 d' AWCD of FBOF2 reached the significant differences. The research also showed that the amounts of *Ralstonia solanacearum* and the microbial kinds in the rhizosphere soil were affected by biological organic fertilizer. The numbers of bacterium and actinomycetes increased, while for the *Ralstonia solanacearum* it reduced evidently.

Keywords: biological organic fertilizer; tomato bacterial wilt; disease-control effect; acting mechanism

青枯病是一种全世界范围广泛分布的细菌性土传病害^[1], 在高温、高湿的热带、亚热带地区大量流行,

是农业可持续发展的主要障碍之一。青枯病是由劳尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的一种土传病害^[2], 其侵染寄主多达 50 个科 200 种作物以上^[3], 在我国, 番茄、辣椒、烟草等茄科作物普遍发生。青枯病防治的主要技术包括种植抗病性品种、化学防治、生物防治、土壤添加剂防治和综合防治等^[4-7], 许多研究者进行了有关这方面的研究。

收稿日期: 2009-03-18

基金项目: 农业部 948 项目(2006-G62) 广州市科技计划项目(2007Z2-E0051)

作者简介: 肖相政(1972—) 男, 湖南邵阳人, 副研究员, 博士研究生, 主要从事生物肥料等方面的研究工作。E-mail: xxxzlj@126.com

通讯作者: 廖宗文 E-mail: zwliao@sohu.com

施肥防病是近几年发展起来的前沿研究技术,通过施用有机肥、堆肥等改善土壤微生态环境,提高土壤微生物多样性指数,提高土壤的健康质量指标^[8],为防治作物土传病害提供了一种新途径。蔡燕飞等^[9]在番茄青枯病发生严重的土壤上施用腐熟堆肥获得显著的抑病效果,在对照发病率为 100%的情况下,腐熟堆肥处理的发病率仅为 39%~50%。谭兆赞等^[10]研究结果表明,施用复合菌剂可延缓青枯病发病时间并降低发病率,同时可以不同程度地提高土壤微生物的多样性。孔维栋^[11]试验结果表明,不同腐熟程度的有机肥对番茄青枯病的发生率有不同的防治效果。Marvil J 等^[12]用农业和城市堆肥防治辣椒和番茄根结线虫具有很好的防治效果。Raquel G 等^[13]研究发现施用污泥对常见的立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)、齐整小核菌(*Sclerotium rolsii*)等 5 种作物土传病害有抑制效果。亦有研究表明,施用生物有机肥能明显提高土壤微生物多样性^[14-15],增强脲酶、磷酸酶、过氧化氢酶等土壤酶的活性^[16-17],从而改善作物根际土壤微生态环境,增强抗病力。

本文研究了由有机废弃物堆置腐熟后通过添加微生物功能菌制成的生物有机肥对番茄青枯病的防治效果,所述功能菌包括枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)和荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*),均为植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR),其中枯草芽孢杆菌对青枯病具有特定的抑制作用,同时分析了施用功能生物有机肥对土壤微生物多样性的影响以及植株体内多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性变化,并对其作用机理进行了初步探索。

1 材料与方法

1.1 试验材料

功能生物有机肥 1 (FBOF1)、功能生物有机肥 2 (FBOF2),均由华南农业大学新肥料资源研究中心研制,其中胶质芽孢杆菌由河北省微生物研究所章淑艳惠赠,短小芽孢系作者自河北高阳玉米根际土壤分离;枯草芽孢杆菌系作者自河北邯郸棉花黄萎病发病地根际土壤分离;荧光假单胞菌 GIM1.49 购自广东省微生物研究所。生物有机肥(BOF,试验参比用肥料),南京农业大学研制生产。所用肥料各参数列于表1。

表 1 生物有机肥理化指标

Table 1 The physical and chemical index of biological organic fertilizer

肥料	pH	水分/%	有机质/%	N/%	P ₂ O ₅ /%	K ₂ O/%	功能菌数量/cfu·g ⁻¹
FBOF1	7.47	32.7	36.2	0.924	1.146	1.511	8.9×10 ⁷
FBOF2	7.52	31.6	37.3	0.932	1.043	1.643	5.1×10 ⁷
BOF	7.43	30.5	35.0	3.00	1.80	1.20	2.6×10 ⁷

青枯病原菌(*Ralstonia solanacearum*),华南农业大学新肥料资源研究中心分离保藏,番茄品种为“益丰 4 号”,广州蔬菜研究所研制生产。

1.2 试验方法

采用番茄盆栽试验方法,设置了空白对照(CK)、FBOF1、FBOF2 和 BOF 共 4 个处理,生物有机肥的用量均为 5 g·kg⁻¹ 土,每处理 3 次重复,随机排列。试验基施尿素 0.15 g·kg⁻¹ 土、过磷酸钙 0.4 g·kg⁻¹ 土和氯化钾 0.105 g·kg⁻¹ 土,开花期和结果期追肥两次,每次尿素 0.05 g·kg⁻¹ 土、过磷酸钙 0.134 g·kg⁻¹ 土和氯化钾 0.035 g·kg⁻¹ 土。

番茄播种前先用 2%的次氯酸钠消毒 2 min,然后用无菌水反复冲洗,播种在小塑料盒中(有机肥基质和菜园土按 1:1 混合而成),20 d 后移苗,每盆 2 株。移苗时接种青枯病原菌,接种量 3.0×10⁵ cfu·g⁻¹ 土,移苗时随浇水接种于根部。

1.2.1 病情调查

番茄青枯病按发病严重程度分为 5 级^[18]。0 级为叶面无症状;1 级为植株 1/4 以下的叶面表现为萎蔫症状;2 级为植株上 1/4~1/2 叶面表现为萎蔫症状;3 级为植株 1/2 以上叶面表现萎蔫症状;4 级为全株萎蔫死亡。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。每 2 d 记录 1 次。

1.2.2 PPO、POD 和 PAL 测定

施肥后 0、24、48、72、96 h 取叶片进行测定,称取叶片约 0.5 g,将叶片剪碎放入预冷的研钵中,加入液氮快速研磨使成粉末,再加入 2 mL 0.2 mol·L⁻¹ 硼酸钠缓冲液(pH8.8)及 0.1 g 石英砂,冰浴中研磨成匀浆,再用 2 mL 缓冲液洗涤研钵及钵 2 次,合并入离心管,4℃下 5 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,上清液即为酶粗提液。

(1)PPO 测定^[19]:底物反应液含有 50 mmol·L⁻¹ 磷酸钠缓冲液(pH6.8)2 mL 和 0.1 mol·L⁻¹ 邻苯二酚 1 mL,加入粗酶液 100 μL,于冰上迅速混匀,在 410 nm 处测定初始值 A0,室温(28℃)静置 20 min 后,测定 A1。以每小时使 OD 增加 0.01 的酶量定义为一个酶活

单位(U) 表示为 $U \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ 。

(2) PAL 测定^[20]: 反应液含有 $0.01 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 硼酸钠缓冲液(pH8.8) 3.9 mL、 $0.6 \text{ mmol} \cdot L^{-1}$ L-苯丙氨酸 1 mL 和粗酶液 0.1 mL, 空白不加 L-苯丙氨酸, 30°C 保温 3 min, 在 290 nm 处测定初始值 A0, 放入 30°C 水浴 30 min 后测定 A1, 30 min 内酶活为 $A1-A0$ 。以每小时使 OD 增加 0.01 的酶量定义为一个酶活单位(U) 表示为 $U \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ 。

(3) POD 测定^[21]: 底物反应液含有 $0.1 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 磷酸盐缓冲液(pH7.8) 3 mL、愈创木酚 $15 \mu\text{L}$ 和 $30\% \text{ H}_2\text{O}_2$ $30 \mu\text{L}$, 32°C 水浴中平衡 5 min 后, 加入粗酶液 $20 \mu\text{L}$ 启动反应。每 0.5 min 测 1 次 OD_{470} , 共测 3 min。以每分钟 OD 增加 0.01 的酶量定义为一个酶活单位(U) 表示为 $U \cdot g^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.2.3 土壤微生物多样性分析

采用 Biolog ECO 板研究不同生物有机肥对土壤微生物多样性的影响。分别在移栽 15、25、40 d 后取土分析, 具体方法参照文献[22]。

1.2.4 土壤微生物数量测定

取移栽 40 d 后的土壤, 采用稀释涂平板法测定其中细菌、霉菌和酵母、放线菌及青枯菌数量。细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基, 放线菌采用高氏一号培养基, 霉菌和酵母采用孟加拉红培养基, 青枯菌采用 TTC 培养基^[23]。

1.2.5 统计方法

采用 SAS 8.0 进行数据统计分析 (SAS Institute, Gary, NC, USA)。

2 结果与分析

2.1 生物有机肥对番茄青枯病病情指数的影响

从表 2 结果可以看出, 不同生物有机肥对番茄青枯病均有防治效果, 达到 27.6%~69.0%, 其中以

表 2 生物有机肥对番茄青枯病的防治效果

Table 2 The disease-control effect of biological organic fertilizer on tomato bacterial wilt

处理	病情指数		防治效果/%	
	40 d	60 d	40 d	60 d
CK	34.4a	90.6a		
FBOF1	12.5b	28.1c	63.7	69.0
FBOF2	21.9ab	65.6b	36.3	27.6
BOF	18.8ab	53.1b	45.3	41.4

注: 同一栏中不同字母代表显著性差异($P=0.05$)。

Note: Numbers with different letter in the same column show significant differences at $P \leq 0.05$.

FBOF1 效果最好, 40、60 d 时的病情指数分别为 12.5、28.1, 与对照相比, 差异显著, 同时从移栽 60 d 时的病情指数可以看到, FBOF1 与 FBOF2、BOF 相比也达到了显著水平。各处理移栽 40 d 时发病相对较轻, 随着时间的延长, 发病程度加重, 对照的病情指数达到 90 以上, 但生物有机肥表现了比较稳定的防治效果。

2.2 生物有机肥对番茄 PPO、POD 和 PAL 活性的影响

施用生物有机肥后, 番茄植株体内 PPO、PAL、POD 活性呈现不同的变化规律。图 1 结果显示, 施用 FBOF2 的处理 PPO 活性第 1 d 明显增加, 达到一活性高峰, 随后逐渐下降, 而施用 FBOF1 和 BOF 的处理则表现较为平稳, PPO 活性呈递增趋势, 至第 4 d 略有下降, CK 中的变化没有明显规律, 酶活低于施生物有机肥的处理。

对 PAL 而言(图 2), 施用 FBOF1 和 FBOF2 后, 从第 1 d 开始活性明显增加, CK 从施用时到第 4 d 一直比较平稳, 第 4 d 时施用 FBOF1 的处理其 PAL 活

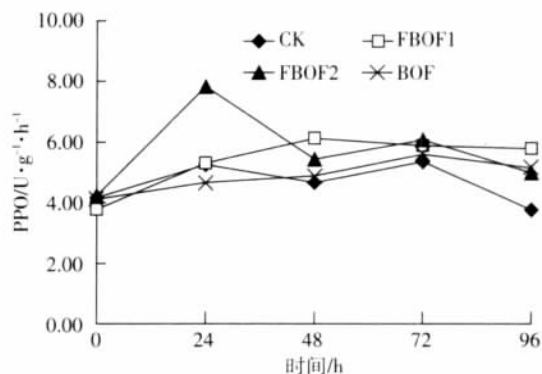


图 1 不同生物有机肥对番茄 PPO 活性的影响

Figure 1 Effect of different biological organic fertilizer on the tomato PPO activity

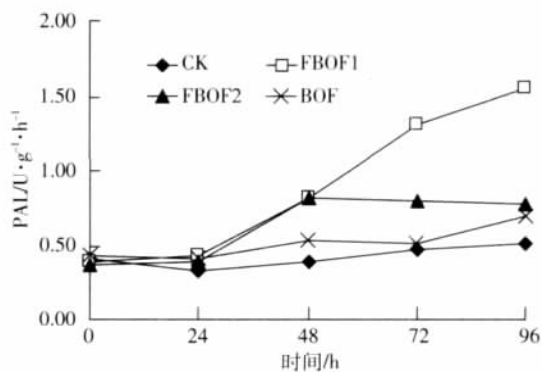


图 2 不同生物有机肥对番茄 PAL 活性的影响

Figure 2 Effect of different biological organic fertilizer on the tomato PAL activity

性是对照的 3 倍,用 BOF 处理的植株 PAL 活性与对照相比无明显差异,略高于对照。

从图 3 可以看出,FBOF2 和 BOF 的 POD 活性变化趋势相似,呈缓慢的递增规律,而用 FBOF1 的处理,从第 2 d 起其 POD 活性急剧上升,到第 3 d 时达到峰值,整个过程中处理的 POD 活性都要高于 CK。

综合 3 种植物防御性酶活性变化曲线可知,施用生物有机肥后,酶活总体呈现递增的趋势,且 PPO 响应速度要快于 PAL 和 POD。

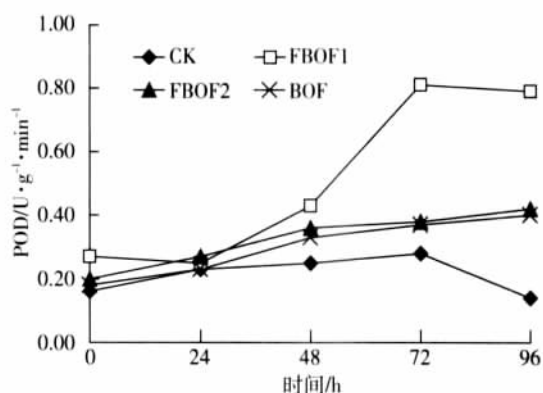


图 3 不同生物有机肥对番茄 POD 活性的影响

Figure 3 Effect of different biological organic fertilizer on the tomato POD activity

2.3 生物有机肥对土壤微生物多样性的影响

平均每孔颜色变化率(AWCD)是反映土壤中微生物多样性的一个指标^[24]。表 3 显示,施用生物有机肥后,AWCD 值增加。从培养 48 h 的结果看,在 3 个取样时间用 FBOF1、FBOF2 和 BOF 的处理 AWCD 值都高于 CK,其中第 15 d 时,用 BOF 的处理其 AWCD 值与 CK 相比差异显著,第 40 d 时,用 FBOF2 的处理其 AWCD 值与 CK 相比差异显著;从培养 72 h 的结果看,第 25、40 d 取样时,生物有机肥处理的 AWCD 值都高于 CK,差异达显著水平,AWCD 值的增加意味着土壤微生物功能多样性的增强。同时从表中结果可以发现,随着取样时间的推后,AWCD 值总体呈现下降趋势,分析原因是由于环境气温逐渐降低所致。

2.4 生物有机肥对土壤中主要微生物菌群数量的影响

采用活菌稀释计数是分析土壤中可培养微生物的一个重要手段,可以直接反映各主要微生物类群的数量状况。从表 4 可以看出,施用生物有机肥后,细菌数量都有不同程度的增加;霉菌和酵母菌 CK 和 FBOF1、FBOF2 差异不大,BOF 中霉菌和酵母菌数量增加较多,放线菌中 FBOF1 增加明显,与其他处理相比,达到极显著差异水平;青枯菌数量 FBOF2、BOF

表 3 不同生物有机肥处理的 AWCD 值比较

Table 3 The AWCD of different biological organic fertilizer treatment

处理	AWCD/48 h			AWCD/72 h		
	15 d	25 d	40 d	15 d	25 d	40 d
CK	0.809 7b	0.653 3a	0.505 3b	1.332 4ba	0.972 9b	0.792 1b
FBOF1	0.906 9b	0.686 8a	0.809 9ba	1.304 3b	1.209 3a	1.137 6a
FBOF2	0.911 5b	0.825 6a	1.010 7a	1.425 3ba	1.262 8a	1.246 4a
BOF	1.203 5a	0.748 5a	0.827 5ba	1.442 5a	1.123 4ba	1.149 9a

注:同一栏中不同字母代表显著性差异($P=0.05$)。

Note: Numbers with different letter in the same column show significant differences at $P \leq 0.05$.

表 4 生物有机肥对土壤中微生物类群数量的影响(cfu·g⁻¹土)

Table 4 The effect of biological organic fertilizer on the number of main microorganisms in soil(cfu·g⁻¹soil)

处理	细菌($\times 10^7$)	霉菌和酵母($\times 10^3$)	放线菌($\times 10^5$)	青枯菌($\times 10^3$)
CK	21a	38a	28a	141a
FBOF1	24a	34a	72b	—
FBOF2	24a	38a	31a	29b
BOF	29a	51a	33a	37b

注:1.“—”表示在 10^{-3} 平板上未计出;2.同一栏中不同字母代表显著性差异($P=0.05$)。

Note: 1. The “—” in the table means no growth in the plate of 10^{-3} ; 2. Numbers with different letter in the same column show significant differences at $P \leq 0.05$.

显著低于 CK, 而 FBOF1 在同浓度平板上未生长, 说明数量更低, 青枯菌数量的减少大大降低了植株感病的几率。

3 结论与讨论

植物防御酶与植物抗性关系密切, 它的诱导产生是植物重要的生理生化抗性机制之一, 在植物病原物互作中, PPO、PAL、POD 等酶通过参与植物抗病次生物质(如木质素、酚类化合物和质保素)的代谢, 或植物体内活性氧的代谢, 或直接抑制、杀死病原菌, 从而使植物对病原物具有抗性。本研究中施用生物有机肥后, 番茄植株体内的防御性酶 PPO、PAL、POD 活性增强, 这可能与加入其中的枯草芽孢杆菌等 PGPR 功能菌有关。许多报道表明, PGPR 菌能诱导作物产生系统抗性^[25-27], 增强抗病力, 如 Jetiyanon^[27]研究表明作物体内超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(PO)活性的增加是由于 PGPR 复合菌剂的诱导作用所致, 但把生物有机肥的应用与诱导作物系统抗性联系起来, 尚未见相关报道。PGPR 的生防机制除诱导作物系统抗性外, 还包括与病原菌竞争生态位点, 产生对病原菌具有直接拮抗作用的代谢产物, 如铁载体、抗菌素等, 这为本研究中施用生物有机肥后导致根际土壤中青枯菌数量下降提供了有力的证据。但本文生物有机肥中使用的功能菌是否产生对青枯菌具有直接拮抗作用的代谢物, 需进一步深入研究。

施用有机肥可以提高土壤微生物的生物多样性, 改善土壤微生态环境, 增强番茄对青枯病的抵抗力。本研究表明, 施用生物有机肥可以提高土壤微生物的 AWCD 值, 降低青枯病的病情指数, 提高防病效果, 与以前的研究结果一致^[9,15], 但本文研制的生物有机肥还具有抑制土壤中青枯病原菌的存活、降低其数量的作用。

综上所述, 施用生物有机肥能显著降低番茄青枯病的发病率, 提高植株的防病效果, 其可能的作用机制包括施用生物有机肥提高土壤微生物功能多样性, 抑制青枯菌在土壤中的存活和繁殖, 同时能诱导作物产生系统抗性, 提高植株相关防御性酶的活性。

参考文献:

- [1] Yabuuchi E, Kosako Y, Yano I, et al. Transfer of two burkholderia and an alcaligenes species to ralstonia gen. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1986) comb. Nov[J]. *Microbiology Immunology*, 1995, 9: 897-904.
- [2] 何礼远, 康耀卫. 植物青枯菌(*Pseudomonas solanacearum*)致病机理[J]. 自然科学进展, 1995, 5(1): 7-16.

- HE Li-yuan, KANG Yao-wei. The disease-causing mechanism of *Pseudomonas solanacearum*[J]. *Natural Sciences Progress*, 1995, 5(1): 7-16.
- [3] Hayward A C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*[J]. *Annual Review Phytopathology*, 1991, 29: 65-87.
- [4] 郑继法, 丁爱云, 张建华, 等. 烟草青枯病研究进展[J]. 山东农业大学学报, 1998, 29(4): 527-531.
- ZHENG Ji-fa, DING Ai-yun, ZHANG Jian-hua, et al. Advances on the bacterial wilt of tobacco *Pseudomonas solanacearum*[J]. *Journal of Shandong Agricultural University*, 1998, 29(4): 527-531.
- [5] 朱圣杰, 丁克坚, 檀根甲. 植物青枯病的生物防治研究进展[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(4): 606-607(615).
- ZHU Sheng-jie, DING Ke-jian, TAN Gen-jia. The research progress of biological control about plants *Pseudomonas solanacearum*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2003, 31(4): 606-607(615).
- [6] Jaacov Katan. Physical and cultural methods for the management of soil-borne pathogens[J]. *Crop Protection*, 2000, 19: 725-731.
- [7] Ciampi-panno L, Fernandez C, Bustamante P. Biological control of bacterial wilt of potatoes caused by *Pseudomonas solanacearum*[J]. *American Potato Journal*, 1989, 66: 315-332.
- [8] Celine J, Francois V, Claude A, et al. Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39: 1-23.
- [9] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 等. 生态有机肥对土壤微生物多样性和番茄青枯病的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(3): 349-353.
- CAI Yan-fei, LIAO Zong-wen, ZHANG Jia-en, et al. Effect of ecological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial diversities[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(3): 349-353.
- [10] 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): 45-49.
- TAN Zhao-zan, LIN Jie, LIU Ke-xing, et al. Effects of complex microbial fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial diversities[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2007, 28(1): 45-49.
- [11] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文, 等. 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.
- KONG Wei-dong, LIU Ke-xing, LIAO Zong-wen, et al. Effect of organic matter on metabolic functional diversity of soil microbial community under pot incubation conditions [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(9): 2291-2296.
- [12] Marvil J, Pinochet J, Rodriguez-Kabana R. Agricultural and municipal composts residues for control of root-knot nematodes in tomato and peppers[J]. *Compost and Utilization*, 1997, 5(1): 91-94.
- [13] Raquel G, Flavia R A P, Wagner B, et al. Effect of sewage sludge on suppressiveness to soil-borne plant pathogens[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39: 2797-2805.
- [14] Gary D B, Mary K T, Julie E J. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 1073-1082.
- [15] Tajul M D I, Koki T. Suppression of bacterial wilt of tomato by *Ralstonia solanacearum* by incorporation of composts in soil and possible mechanisms[J]. *Microbes Environment*, 2004, 19(1): 53-60.

- [16] 夏光利, 毕军, 张萍, 等. 新型生物有机肥(NAEF)对番茄生长及土壤活性质量效应研究[J]. 土壤通报, 2007, 38(3): 519–522.
XIA Guang-li, Bi Jun, ZHANG Ping, et al. Effect of a new bio-organic fertilizer on tomato growth and soil activity quality[J]. *Chinese Journal of Soil Sciences*, 2007, 38(3): 519–522.
- [17] 王鹏. 有机生物活性肥料对土壤肥力、微生物及酶活性的影响[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(12): 114–115.
WANG Peng. Effect of biological active fertilizer on soil fertility, soil microbiology and enzyme activity[J]. *Agronomy Journal of Anhui*, 2006, 12(12): 114–115.
- [18] 方中达. 植病研究方法[M]. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
FANG Zhong-da. Research method of phytopathology [M]. 3rd version. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1998.
- [19] Mayer A M, Harel E, Shaul R B. Assay of catechol oxidase: a critical comparison of methods[J]. *Phytochem*, 1965, 5: 783–789.
- [20] Ross W W, Sederoff R R. Phenylalanine ammonia lyase from loblolly pine: Purification of the enzyme and isolation of complementary DNA clones[J]. *Plant Physiol*, 1992, 98: 380–386.
- [21] Hammerschmidt R, Nuckles E M, Kuc J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*[J]. *Physiol Plant Pathol*, 1982, 20: 73–82.
- [22] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其试验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 166–169.
YAO Huai-ying, HUANG Chang-yong. Soil microbial ecology and experimental technology[M]. Beijing: Sciences Press, 2006: 166–169.
- [23] Kelman A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tertrazolium medium[J]. *Phytopathology*, 1954, 64: 293–295.
- [24] Yan F, Mcbratney A B, Copeland L. Functional substrate biodiversity of cultivated and uncultivated: A horizons of vertisols in NW New South Wales[J]. *Geoderma*, 2000, 96: 321–343.
- [25] Van Peer R, Niemann G J, Schippers B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS 417r[J]. *Phytopathology*, 1991, 81: 728–733.
- [26] Zhou T, Paulitz T C. Induced resistance in the biological control of *Pythiumaphanidermatum* by *Pseudomonas* spp[J]. *Journal of Phytopathology*, 1994, 142: 51–63.
- [27] Jetiyanon K. Defensive-related enzyme response in plants treated with a mixture of *Bacillus* strains (IN937a and IN937b) against different pathogens[J]. *Biological Control*, 2007, 42: 178–185.