

移栽定殖根际有益菌番茄苗的田间效应研究^①

张娜¹, 黄炎¹, 徐谔¹, 张博¹, 邓旭辉¹, 王东升², 陶成圆¹,
王其传³, 李荣^{1*}, 沈其荣¹

(1 江苏省固体有机废弃物资源化高新技术研究重点实验室/江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心/国家有机肥类肥料工程技术研究中心/南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095; 2 南京市蔬菜科学研究所, 南京 210042; 3 淮安柴米河农业科技发展有限公司, 江苏淮安 223001)

摘要: 为评估移栽定殖根际有益菌(PGPR)番茄苗对果实产量和青枯病防控效果的影响, 通过连续 3 季田间试验, 研究了基于生物有机肥的施用, 移栽生物育苗基质(在普通育苗基质中添加分离自根际的解淀粉芽孢杆菌)所育种苗(BIONS), 相比于移栽普通育苗基质所育种苗(BIO), 对设施番茄产量、发病率、收获期植株土体与根际微生物数量和土壤基本理化性质的影响。连续 3 季田间试验结果表明: 相比于 BIO 处理, BIONS 处理第一、二、三季的增产幅度分别达 38.86%、47.87%、34.60%, 产量差异均达到显著性水平; BIONS 处理的发病率每季均极显著低于 BIO 处理; BIONS 处理增加了根际细菌数量, 降低了根际真菌数量; 土壤基本理化性质方面, BIONS 处理的硝态氮含量和铵态氮含量每季均高于 BIO 处理, 且硝态氮含量与产量呈显著正相关, 硝态氮含量和铵态氮含量与发病率呈显著负相关。因此, 以生物有机肥为底肥, 移栽生物育苗基质所育种苗, 能够有效防控番茄青枯病的发生, 进而提高产量。

关键词: 番茄; 产量; 青枯病; 生物育苗基质; 根际有益菌

中图分类号: S365 **文献标识码:** A

随着设施蔬菜产业的发展, 番茄种植面积日益扩大^[1], 而番茄青枯病是严重制约设施番茄可持续生产的主要土传病害之一^[2]。番茄青枯病是由茄科劳尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的一种细菌病害, 其侵染范围广, 分布具全球性, 难以防治且一旦爆发对作物经济产生毁灭性影响^[3-4]。国内外研究者发现, 通过土壤化学熏蒸, 向土壤中添加有机物质、施用微量元素肥料、生物防控方法等均能降低青枯病发病率^[5-8], 但防控效果大多不具稳定性^[9-11]。

生物有机肥是一种包含特定功能微生物菌种的特殊有机肥料^[12], 功能微生物与有机物质相结合能有效提高功能微生物的活性和病害防控能力^[13]。国内外研究均表明, 施用生物有机肥可促进植株产量的增加和品质的提升^[14], 同时能一定程度上保护作物不受病原菌侵染, 从而有效抑制土传病害的发生^[15-17]。已有大量研究证实, 生物有机肥能够有效控制青枯病的发

生^[18-19]; 同时研究证实, 生物有机肥发挥作用的关键在于有益微生物在植物根际的定殖^[20-21]。因此, 如能够将生物有机肥中的有益菌在苗期提前定殖于植物根际, 预计能够有效促进作物的产量。已有研究表明, 利用芽孢杆菌制成生物基质育苗, 能够促使功能菌苗期定殖于根际, 从而提高西瓜的田间生物量和产量^[22]; 孙跃跃等^[23]研究结果也表明将生防放线菌等菌剂加入育苗基质育苗, 可显著提高甜瓜的生物量及抗逆性。然而, 将生物育苗基质和生物有机肥联合田间施用, 对防控作物土传病害的研究还少有报道, 尤其是连续应用的效果, 还缺少研究。

本研究采用连续 3 季田间试验, 以生物有机肥为底肥, 评估了在育苗基质中添加有益菌 T-5 促使其在移栽大田前定殖于番茄根际, 对番茄青枯病防控及产量增加的影响, 以期能为设施番茄高产高效栽培提供实际指导和理论支撑。

基金项目: 江苏省科技计划项目(BY2016077-05)、国家重点研发计划项目(2016YFE0101100 和 2016YFD0800605)、江苏省青年自然科学基金项目(BK20160710)、江苏省高校品牌专业建设工程资助项目(PPZY2015A061)和校大学生创新训练项目(1513A09)资助。

* 通讯作者(lirong@njau.edu.cn)

作者简介: 张娜(1991—), 女, 新疆阿克苏人, 硕士研究生, 主要研究领域为植物营养学。E-mail: 2018203032@njau.edu.cn

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试番茄品种为“世纪红冠”。供试菌株解淀粉芽孢杆菌 T-5, 由江苏省固体有机废弃物资源化高技术重点实验室提供, 该菌株能够定殖于番茄根际, 从而有效防控青枯病的发生^[24-25]。

供试生物有机肥由本实验室自行研制^[26], 产品中菌株 T-5 含量为 6×10^8 cfu/g(以干物质质量计)。

供试普通育苗基质由南京市蔬菜科学研究所提供。

1.2 试验设计

田间试验于 2014 年 3 月至 2015 年 6 月(共 3 季)在南京市蔬菜科学研究所大棚内进行。供试土壤为黄壤土, 基本理化性质为 pH 6.33、有机质 43.56 g/kg、全氮 1.89 g/kg、有效磷 138.66 mg/kg、速效钾 464.81 mg/kg。

田间试验共设置 2 个处理: 施用生物有机肥并移栽普通育苗基质所育种苗(BIO)处理, 生物有机肥的施肥量为 5 997 kg/hm²; 施用生物有机肥并移栽生物育苗基质所育种苗(BIONS)处理, 生物有机肥的施用量同 BIO 处理。番茄全生育期所需其余养分用化肥补齐。每个处理设置 3 个重复, 每个重复小区面积为 10 m², 种植密度为每个小区 32 棵番茄, 每季番茄种植时间为 3 个月。

本试验生物育苗基质的制备及育苗步骤为: 将解淀粉芽孢杆菌 T-5 在 LB 培养基中发酵以制备菌液^[27]; 将菌液按 5% (*V/W*, *W* 为干物质质量) 比例与普通基质混合均匀制成生物育苗基质^[22]。将番茄种子进行表面消毒后浸种催芽, 待种子露白后分别埋于普通育苗基质和生物育苗基质; 待番茄幼苗长出第二片真叶时移栽至田间。普通育苗基质所育种苗移栽于 BIO 处理, 生物育苗基质所育种苗移栽于 BIONS 处理。

1.3 样品采集及测定

1)产量和发病率统计。在番茄进入收获期后, 采摘番茄全部果实记产量, 并统计番茄发病率, 发病率表示为具青枯病症状植株占总植株数的百分比。

2)土壤样品的采集。于番茄收获期, 各小区随机选择 3 株健康植株, 连根带土采集完后送至实验室进行土体和根际土壤样品的分离^[28], 各小区内土体和根际样品分别进行合并为该小区代表性样品, 保存于超低温冰箱中备用。

3)DNA 的提取及测定。称取 0.25 g 土壤样品, 用土壤 DNA 提取试剂盒 (Mo Bio Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA), 按操作说明提取土壤 DNA。采用实时荧光定量 PCR 方法测定土壤样品中病原菌、

总细菌、总真菌数量。病原菌扩增引物选用 flic F (5'-GAACGCCAACGGTGCCTGCGAACT-3') 和 flic R (5'-GG-CGGCCTTCAGGGAGGTC-3')^[29]; 细菌扩增引物选用 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 518R (5'-ATTACCGCGGCTG CTGG-3')^[30]; 真菌扩增引物选用 ITS1f(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 5.8S(5'-CGCTGCGTTCCTTCATCG-3')^[30]。定量使用仪器为 ABI PRISM® 7500 Real-time PCR system, 反应体系见表 1。反应程序为: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 53 °C 退火和延伸 34 s(病原菌的退火和延伸温度为 56 °C), 循环 30 次。每个样品设置 3 次重复, 用无菌超纯水替代 DNA 模板设置阴性对照。根据样品阈值 (Ct) 计算每克土中的拷贝数, 结果以拷贝数取对数后表示 (log (Copies/g, 以干物质质量计))。

表 1 定量 PCR 扩增体系
Table 1 Quantitative PCR amplification system

定量 PCR 扩增体系	体积(μl)
SYBR® Premix Ex TaqTM(2×)	10.0
ROX Reference Dye II(50×)	0.4
Forward primer(10 μmol/L)	0.4
Reverse primer(10 μmol/L)	0.4
DNA 模板	2.0
ddH ₂ O	6.8

4)土壤基本理化性质的测定。土壤理化性质的测定参照《土壤农化分析》^[31]进行。

1.4 数据统计与分析

使用 Microsoft Excel 2007 对数据进行处理; 用 SPSS 软件 (20.0, SPSS Inc. Chicago, IL) 进行独立样本 *T* 检验来分析两处理之间的差异; 用 R(version 3.2.0)软件进行土壤微生物数量、基本理化性质与番茄发病率和产量间的 Spearman 相关性分析, 显著水平设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 连续 3 季移栽生物育苗基质所育种苗对设施番茄产量的影响

由表 2 可知, 3 季田间试验, 施用生物有机肥后, 移栽根际定殖功能菌的种苗处理(BIONS)单株产量均高于单施生物有机肥处理(BIO), 但两处理间均无显著差异。每公顷产量 BIONS 处理均显著高于 BIO 处理。第一季 BIONS 处理比 BIO 处理显著增产 18 695.44 kg/hm², 增产幅度达 38.86%; 第二季显著增产 19 578.39 kg/hm², 增产幅度达 47.87%; 第三季显著增产 14 510.63 kg/hm², 增产幅度达 34.60%。

表 2 不同处理对番茄产量的影响
Table 2 Effects of different treatments on tomato yield

种植季	处理	单株产量 (kg/株)	产量 (kg/hm ²)	比 BIO	
				增产量(kg/hm ²)	增产率(%)
第一季	BIO	2.31	48 110.53*		
	BIONS	2.48	66 805.96	18 695.44	38.86
第二季	BIO	1.96	40 901.06*		
	BIONS	2.25	60 479.45	19 578.39	47.87
第三季	BIO	2.17	41 936.25*		
	BIONS	2.36	56 446.88	14 510.63	34.60

注：*表示两处理在 $P<0.05$ 水平差异显著，表 3 同。

2.2 连续 3 季移栽生物育苗基质所育种苗对设施番茄发病率的的影响

由图 1 可知，单施生物有机肥处理(BIO)3 季田间番茄青枯病发病率分别为 34.38%、34.46% 和 40.00%，移栽生物育苗基质所育种苗处理(BIONS)的发病率分别为 15.63%、16.11% 和 25.00%，与 BIO 处理相比，BIONS 处理显著降低了 3 季番茄青枯病的发病率，分别达到了 54.55%、53.25% 和 37.50% 的田间防控效果。

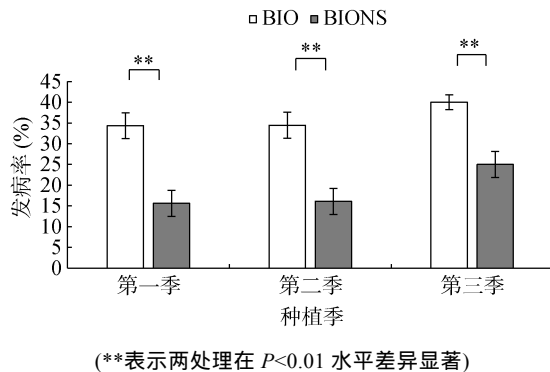


图 1 不同处理对番茄青枯病发病率的影响

Fig.1 Effects of different treatments on incidence of tomato bacterial wilt disease

2.3 连续 3 季移栽生物育苗基质所育种苗对土壤病原菌、总细菌和总真菌数量的影响

由图 2A 和 2B 可知，在第一季和第三季田间试验中，移栽生物育苗基质所育种苗处理(BIONS)和单施生物有机肥处理(BIO)的土体土壤病原菌数量无显著性差异，第二季 BIONS 处理土体土壤中病原菌数量显著低于 BIO 处理。第一季和第二季 BIONS 处理番茄根际土壤中病原菌数量高于 BIO 处理但无显著性差异，第三季 BIONS 处理根际病原菌数量极显著低于 BIO 处理。

由图 2C 和 2D 可知，第一季 BIONS 处理土体总细菌数量高于 BIO 处理但无显著性差异，第二季和

第三季均低于 BIO 处理，且在第二季两处理间具有显著性差异。BIONS 处理根际总细菌数量在 3 季田间试验中均高于 BIO 处理，第二季两处理间具有显著性差异。

由图 2E 和 2F 可知，3 季 BIONS 处理土体总真菌数量均低于 BIO 处理，但不具有显著性差异。第一季和第三季 BIONS 处理的根际总真菌数量极显著低于 BIO 处理。

2.4 生物育苗基质联合生物有机肥连续施用对土壤基本理化性质的影响

由表 3 可知，在第一季田间试验中，生物有机肥处理(BIO)的 pH 显著高于移栽生物育苗基质所育种苗处理(BIONS)，BIO 处理的铵态氮含量显著低于 BIONS 处理，两处理土壤在其余基本理化性质上无显著性差异。第二季，BIO 处理的速效钾含量和硝态氮含量显著低于 BIONS 处理。第三季，土壤基本理化性质在两处理间无显著差异。从总体上看，连续 3 季田间试验 BIO 处理的硝态氮含量和铵态氮含量均低于 BIONS 处理，其余土壤理化性质无变化规律。

2.5 土壤微生物及理化指标与番茄产量的相关性

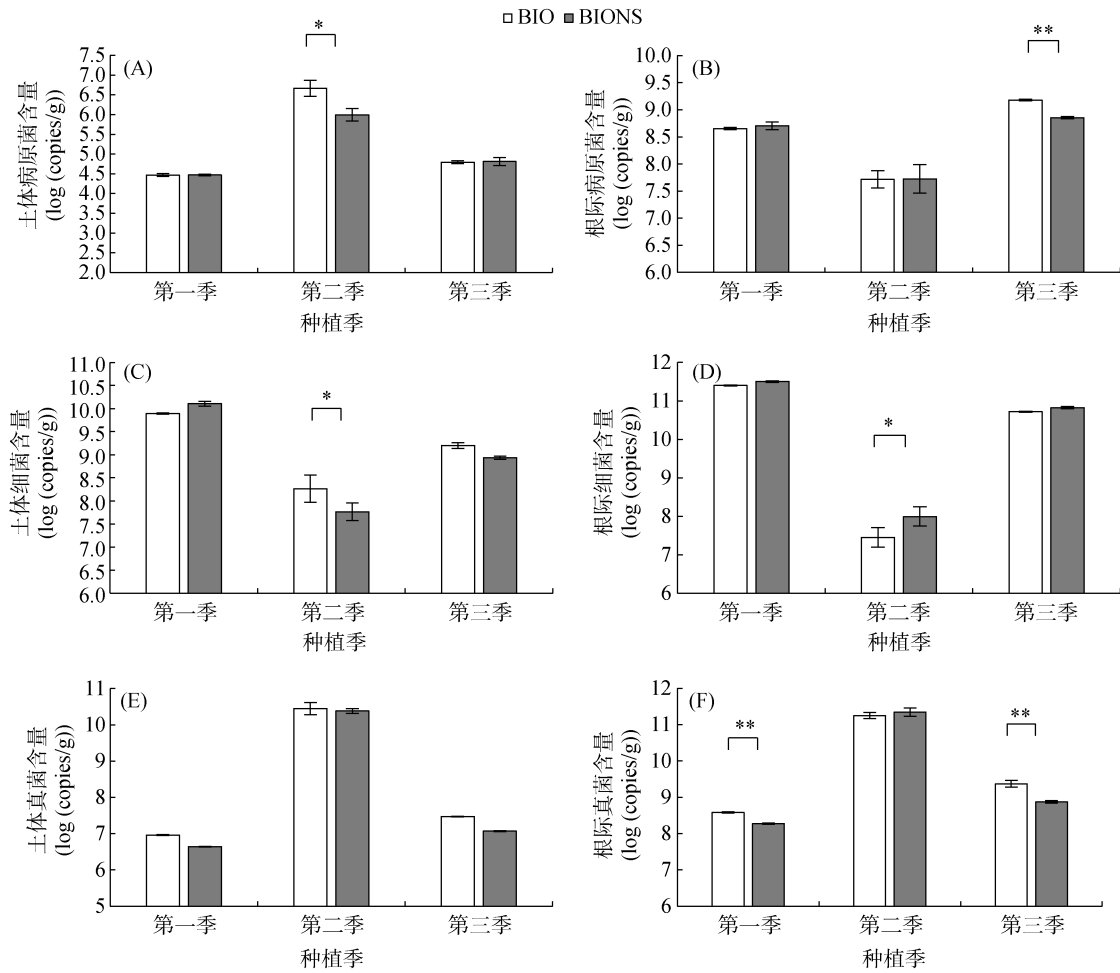
如表 4 所示，番茄发病率与产量呈显著负相关 ($\rho = -0.46, P = 0.00010$)，细菌数量与产量呈显著正相关 ($\rho = 0.40, P = 0.0026$)，真菌数量与产量呈显著负相关 ($\rho = -0.32, P = 0.019$)。土壤基本理化性质中，pH、速效钾含量、有效磷含量、硝态氮含量和铵态氮含量均与产量呈正相关，其中 pH、有效磷含量和硝态氮含量与产量呈显著正相关 ($\rho = 0.32, P = 0.020$; $\rho = 0.33, P = 0.014$; $\rho = 0.28, P = 0.039$)，电导率与产量呈负相关，但相关性不显著。

2.6 土壤微生物及理化指标与番茄青枯病发病率的相关性

如表 5 所示，3 季田间试验，病原菌数量与番茄青枯病发病率呈显著正相关 ($\rho = 0.32, P = 0.019$)，其余无显著相关性。土壤理化性质中，pH、电导率、有效磷含量、硝态氮含量和铵态氮含量均与番茄青枯病发病率呈负相关，但只有硝态氮和铵态氮含量与青枯病发病率呈显著负相关 ($\rho = -0.38, P = 0.0049$; $\rho = -0.51, P = 0.00010$)，速效钾含量与青枯病发病率呈正相关，但相关性不显著。

3 讨论

3 季田间试验 BIONS 处理的产量均显著高于 BIO 处理，但单株产量两处理间无显著差异。已有研究表明生物育苗基质可培育出优质辣椒和番茄优质



(图 A、C、E 为土体土指标，B、D、F 为根际土指标；*、** 分别表示两处理在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水平差异显著)

图 2 不同处理对微生物数量的影响

Fig. 2 Effects of different treatments on microbial biomass

表 3 不同处理对土壤理化性质的影响

Table 3 Effects of different treatments on soil properties

指标	第一季		第二季		第三季	
	BIO	BIONS	BIO	BIONS	BIO	BIONS
pH	7.4 ± 0.1*	7.3 ± 0.1	7.1 ± 0.1	7.2 ± 0.1	7.0 ± 0.1	7.0 ± 0.1
电导率(mS/cm)	425.2 ± 47.7	485.9 ± 63.4	483.6 ± 17.1	497.0 ± 15.4	506.6 ± 98.2	451.6 ± 27.9
速效钾(mg/kg)	393.2 ± 64.4	417.7 ± 55.0	362.3 ± 24.2*	438.2 ± 34.0	527.8 ± 77.8	486.5 ± 22.0
有效磷(mg/kg)	134.4 ± 4.9	136.1 ± 6.4	115.7 ± 17.0	104.2 ± 21.1	79.0 ± 6.1	73.5 ± 5.3
硝态氮(mg/kg)	109.3 ± 27.7	125.2 ± 13.2	123.1 ± 1.8*	189.1 ± 4.3	139.1 ± 11.7	141.9 ± 12.1
铵态氮(mg/kg)	6.1 ± 0.3*	7.1 ± 0.3	8.7 ± 0.8	9.7 ± 0.2	5.4 ± 0.4	5.6 ± 0.9

表 4 土壤微生物数量及基本理化性质与番茄产量的 Spearman 相关性

Table 4 Spearman's correlations between tomato yield with tomato bacterial wilt disease incidence, soil microbial populations and physiochemical characteristics

	发病率	病原菌	细菌	真菌	pH	电导率	速效钾	有效磷	硝态氮	铵态氮
rho	-0.46	0.043	0.40	-0.32	0.32	-0.018	0.16	0.33	0.28	0.26
P	0.000 10	0.76	0.002 6	0.019	0.020	0.90	0.24	0.014	0.039	0.055

注：番茄产量与土壤微生物数量及基本理化性质的相异矩阵基于 Bray-Curtis 距离。

表 5 土壤微生物数量及基本理化性质与番茄青枯病发病率的 Spearman 相关性
Table 5 Spearman's correlations between tomato bacterial wilt disease incidence with soil microbial populations and physiochemical characteristics

	病原菌	细菌	真菌	pH	电导率	速效钾	有效磷	硝态氮	铵态氮
rho	0.32	-0.14	0.11	-0.21	-0.22	0.011	-0.21	-0.38	-0.51
P	0.019	0.32	0.44	0.13	0.12	0.93	0.12	0.004 9	0.000 10

注：番茄青枯病发病率与微生物数量和土壤基本理化性质的相异矩阵基于 Bray-Curtis 距离。

种苗,在移栽至大田后能有效提高辣椒和番茄的生物量和产量^[32-33],但本研究中单株产量虽有增加,但两处理间差异无显著性,且 Spearman 相关性分析表明番茄产量与田间青枯病发病率和土壤真菌数量呈显著负相关,与土壤细菌数量和硝态氮含量呈显著正相关,因此,推测增产主要在于番茄青枯病的防控。

相比 BIO 处理, BIONS 处理显著降低了番茄青枯病的发病率, Spearman 相关性分析表明青枯病发病率与病原菌数量呈显著负相关,且连续种植 3 季后, BIONS 处理根际病原菌数量显著低于 BIO 处理。与本研究结果类似,张钰等^[34]研究表明利用微生物菌剂制备的育苗基质育苗,能降低黄瓜根际枯萎病原菌数量,进而显著降低黄瓜枯萎病的发病率;本实验室前期研究同样表明,施用生物有机肥能够有效防控番茄病害^[35]。本研究基于此进一步证实了,在施用生物有机肥基础上,进一步移栽利用生物育苗基质所育根际定殖功能菌的番茄苗能够进一步降低根际病原菌数量,进而有效防控青枯病的发生,增加作物产量。

土壤微生物与植物病害息息相关^[36],通过调控土壤微生物区系来增强土壤抑病能力,能有效防控土传病害的发生^[37]。在本研究中,根际细菌数量 BIONS 处理 3 季均高于 BIO 处理,而根际真菌数量第一季和第三季显著低于 BIO 处理。Ling 等^[38]研究发现,连续施用生物有机肥有能防控西瓜枯萎病的发生,与根际细菌群落出现显著变化有关。何欣等^[39]在香蕉幼苗期育苗和移栽时均施用结合 SQR21 和 T37 复合拮抗菌剂堆制生物有机肥,有效防控了香蕉枯萎病的发生,同时发现根际微生物组成发生了变化,其显著增加了根际细菌数量同时真菌数量显著降低。Shen 等^[28]研究表明施用生物有机肥能有效防控香蕉枯萎病的发生,同时能优化其土壤微生物区系,增加其中细菌和放线菌等的数量。钟书堂等^[40]的研究也得到了相同的结果。本研究与以上结果一致,番茄根际预定殖有益微生物同时联用生物有机肥优化了根际微生物群落。

从总体上看,连续 3 季田间试验, BIO 处理的土壤硝态氮和铵态氮含量均低于 BIONS 处理,且其含

量与番茄青枯病发病率呈显著负相关,同时硝态氮含量与番茄产量呈显著正相关。氮素对植物的生长至关重要,影响着植物病害和抗性^[41-42],不同氮素形态对病害的防治作用也不同^[43-44]。有研究表明铵态氮能有效降低尖孢镰刀菌番茄专化型病原菌的致病力^[45], Elmer 等^[46]的研究也同样表明铵态氮能一定程度上降低草莓黑腐病的发病率。董鲜等^[47]研究表明硝态氮能通过诱导香蕉幼苗木质素的形成进而提高其抗病性,有效防控香蕉枯萎病的发生。本研究结果显示,连续 3 季 BIONS 处理中硝态氮和铵态氮含量均高于 BIO 处理,这可能也是根际定殖功能菌 T-5 降低番茄青枯病发生的原因。

综上,本研究表明生物有机肥与生物育苗基质联用能显著提高番茄产量,且有效防控番茄青枯病的发生,研究结果能够为生物育苗基质的研发及番茄青枯病的防御提供新思路。

4 结论

相比于单施生物有机肥处理(BIO),育苗基质和生物有机肥联合处理(BIONS)能显著降低番茄青枯病发病率,提高番茄产量; BIONS 处理番茄青枯病发病率显著降低,与番茄根际病原菌数量降低和土壤硝态氮含量和铵态氮含量较高等显著相关;番茄青枯病的有效防控导致 BIONS 处理番茄产量的有效增加。

参考文献：

- [1] 葛晓颖,孙志刚,李涛,等.设施番茄连作障碍与土壤芽孢杆菌和假单胞菌及微生物群落的关系分析[J].农业环境科学学报,2016,35(2):514-523
- [2] 蔡祖聪,黄新琦.土壤学不应忽视对作物土传病原微生物的研究[J].土壤学报,2016,53(2):305-310
- [3] Caruso P, Palomo J L, Bertolini E, et al. Seasonal variation of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 populations in a Spanish river: Recovery of stressed cells at low temperatures[J]. Applied and Environment Microbiology, 2005, 71(1): 140-148
- [4] Allen C, Prior P, Hayward A C, et al. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex[J]. Bacterial Wilt Disease & the Species Complex, 2005

- [5] Hsu S T. Ecology and control of *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan[J]. Plant Protection Bulletin Taiwan, 1991, 33: 72–79
- [6] Bailey K L, Lazarovits G. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments[J]. Soil and Tillage Research, 2003, 72: 169–180
- [7] Kiirika L M, Stahl F, Wydra K. Phenotypic and molecular characterization of resistance induction by single and combined application of chitosan and silicon in tomato against *Ralstonia solanacearum*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2013, 81: 1–12
- [8] Ma Y, Gentry T, Hu P, et al. Impact of brassicaceous seed meals on the composition of the soil fungal community and the incidence of Fusarium wilt on chili pepper[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 90: 41–48
- [9] Gamliel A, Austerweil M, Kritzman G. Non-chemical approach to soilborne pest management-organic amendments[J]. Crop Protection, 2000, 19: 847–853
- [10] Bailey K L, Lazarovits G. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments[J]. Soil and Tillage Research, 2003, 72: 169–180
- [11] 陈志龙, 陈杰, 许建平, 等. 番茄青枯病生物防治研究进展[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 131–134
- [12] 杨兴明, 徐阳春, 黄启为, 等. 有机(类)肥料与农业可持续发展 and 生态环境保护[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 925–932
- [13] Kavino M, Harish S, Kumar N, et al. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa*, spp.) under field conditions[J]. Applied Soil Ecology, 2010, 45(2): 71–77
- [14] 韦巧婕, 郑新艳, 邓开英, 等. 黄瓜枯萎病拮抗菌的筛选鉴定及其生物防效[J]. 南京农业大学学报, 2013, 36(1): 40–46
- [15] Qiu M H, Zhang R F, Xue C, et al. Application of bio-organic fertilizer can control *Fusarium wilt* of cucumber plants by regulating microbial community of rhizosphere soil[J]. Biology & Fertility of Soils, 2012, 48(7): 807–816
- [16] Shen Z Z, Wang B B, Lv N N, et al. Effect of the combination of bio-organic fertilizer with *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 on the control of banana fusarium wilt disease, crop production and banana rhizosphere culturable microflora[J]. Biocontrol Science and Technology, 2015, 25(6): 716–731
- [17] Saravanan T, Muthusamy M, Marimuthu T. Development of integrated approach to manage the fusarial wilt of banana[J]. Crop Protection, 2003, 22: 1117–1123
- [18] 丁传雨, 乔焕英, 沈其荣, 等. 生物有机肥对茄子青枯病的防治及其机理探讨[J]. 中国农业科学, 2012, 45(2): 239–245
- [19] 袁英英, 李敏清, 胡伟, 等. 生物有机肥对番茄青枯病的防效及对土壤微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(7): 1344–1350
- [20] 年洪娟, 陈丽梅. 土壤有益细菌在植物根际竞争定殖的影响因素[J]. 生态学杂志, 2010, 29(6): 1235–1239
- [21] 李文英, 彭智平, 杨少海, 等. 植物根际促生菌对香蕉幼苗生长及抗枯萎病效应研究[J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 234–242
- [22] 张杨, 王甜甜, 孙玉涵, 等. 西瓜根际促生菌筛选及生物育苗基质研制[J]. 土壤学报, 2017, 54(3): 703–712
- [23] 孙跃跃, 马军妮, 李玉龙, 等. 功能性育苗基质中生真菌及腐植酸钾对甜瓜穴盘苗的促生作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(9): 174–180
- [24] Tan S, Yang C, Mei X, et al. The effect of organic acids from tomato root exudates on rhizosphere colonization of *Bacillus amyloliquefaciens*T-5[J]. Applied Soil Ecology, 2013, 64(1): 15–22
- [25] Tan S, Jiang Y, Song S, et al. Two *Bacillus amyloliquefaciens* strains isolated using the competitive tomato root enrichment method and their effects on suppressing *Ralstonia solanacearum* and promoting tomato plant growth[J]. Crop Protection, 2013, 43: 134–140
- [26] Huang Y, Sun L, Zhao J S, et al. Utilization of different waste proteins to create a novel PGPR-containing bio-organic fertilizer[J]. Scientific Reports, 2015, 5(7766): 1–11
- [27] Tan S, Gu Y, Yang C, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* T-5 may prevent *Ralstonia solanacearum* infection through competitive exclusion[J]. Biology & Fertility of Soils, 2016, 52(3): 341–351
- [28] Shen Z Z, Zhong S T, Wang Y G, et al. Induced soil microbial suppression of banana fusarium wilt disease using compost and biofertilizers to improve yield and quality[J]. European Journal of Soil Biology, 2013, 57(4): 1–8
- [29] Schönfeld J, Heuer H, Van E J, et al. Specific and sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in soil on the basis of PCR amplification of *fliC* fragments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(12): 7248–7256
- [30] Fierer N, Jackson J A, Vilgalys R, et al. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(7): 4117–4120
- [31] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [32] 文春燕, 高琦, 张杨, 等. 含 PGPR 菌株 LZ-8 生物育苗基质的研制与促生效应研究[J]. 土壤, 2016, 48(2): 414–417
- [33] 张杨, 文春燕, 赵买琼, 等. 辣椒根际促生菌的分离筛选及生物育苗基质研制[J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(6): 950–957
- [34] 张钰, 孙锦, 郭世荣. 基质中添加微生物制剂对黄瓜幼苗生长和枯萎病抗性的影响[J]. 西北植物学报, 2013, 33(4): 780–786
- [35] Liu H, Xiong W, Zhang R, et al. Continuous application of different organic additives can suppress tomato disease by inducing the healthy rhizospheric microbiota through alterations to the bulk soil microflora[J]. Plant and Soil, 2018, 423: 229–240

- [36] Elsas J D V, Garbeva P, Salles J. Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens[J]. *Biodegradation*, 2002, 13(1): 29–40
- [37] 刘金光, 李孝刚, 王兴祥. 连续施用有机肥对连作花生根际微生物种群和酶活性的影响[J]. *土壤*, 2018, 50(2): 305–311
- [38] Ling N, Deng K, Song Y, et al. Variation of rhizosphere bacterial community in watermelon continuous mono-cropping soil by long-term application of a novel bioorganic fertilizer[J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(7): 570–578
- [39] 何欣, 郝文雅, 杨兴明, 等. 生物有机肥对香蕉植株生长和香蕉枯萎病防治的研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2010, 16(4): 978–985
- [40] 钟书堂, 沈宗专, 孙逸飞, 等. 生物有机肥对连作蕉园香蕉生产和土壤可培养微生物区系的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(2): 481–489
- [41] Marschner H. Book Reviews: Mineral nutrition in higher plants[J]. *Plant, cell & Environment*, 1988, 11: 147–148
- [42] Dordas C. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture: A review[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2008, 28(1): 33–46
- [43] Huber D M, Haneklaus S. Managing nutrition to control plant disease[J]. *Landbauforschung Volkenrode*, 2007, 4(4): 313–322
- [44] Borrero C, Trillas M I, Delgado A, et al. Effect of ammonium/nitrate ratio in nutrient solution on control of Fusarium wilt of tomato by *Trichoderma asperellum*, T34[J]. *Plant Pathology*, 2012, 61(1): 132–139
- [45] Lópezberges M S, Rispaïl N, Pradosrosales R C, et al. A nitrogen response pathway regulates virulence functions in *Fusarium oxysporum* via the Protein Kinase TOR and the bZIP Protein MeaB[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(7): 2459–2475
- [46] Elmer W H, LaMondia J A. Influence of ammonium sulfate and rotation crops on strawberry black root rot[J]. *Plant Disease*, 1999, 83(83): 119–123
- [47] 董鲜, 郑青松, 王敏, 等. 铵态氮和硝态氮对香蕉枯萎病发生的比较研究[J]. *植物病理学报*, 2015, 45(1): 73–79

Effects of Seedlings Colonized PGPR Stains on Bacterial Wilt Disease Suppression and Yield of Tomato

ZHANG Na¹, HUANG Yan¹, XU Xu¹, ZHANG Bo¹, DENG Xuhui¹, WANG Dongsheng²,
TAO Chengyuan¹, WANG Qichuan³, LI Rong^{1*}, SHEN Qirong¹

(1 Jiangsu Key Laboratory of Solid Organic Waste Utilization, Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 Nanjing Institute of Vegetable Science, Nanjing 210042, China; 3 Huaian Chaimihe Agricultural Technology Development Co. Ltd., Huaian, Jiangsu 223001, China)

Abstract: The effects of seedlings colonized PGPR stains on tomato bacterial wilt disease suppression and yield were investigated via continuously 3 season field experiments in this study for providing a new strategy to maintain the tomato sustainable production. Compared with the control (BIO) transplanted with common seedlings cultivated in ordinary nursery substrate, seedlings colonized PGPR stain produced by bio-nursery substrate were transplanted in the field amended with bio-organic fertilizer (BIONS) to evaluate the tomato yield enhancement and bacterial wilt disease suppression ability as well as its influence on microbial biomass and soil properties in a plastic greenhouse. Results showed that compared to BIO, BIONS significantly increased tomato yield by 38.86%, 47.87% and 34.60% in the first, second and third seasons, respectively. Meanwhile, tomato bacterial wilt disease incidence of BIONS was prominently lower than BIO. Moreover, BIONS application significantly increased rhizosphere bacteria but decreased fungi populations. During the three seasons, the contents of ammonium nitrogen (NO₃⁻-N) and nitrate nitrogen (NH₄⁺-N) were higher in BIONS than in BIO; ammonium nitrogen amount had a positive correlation with tomato yield; and negative correlation was observed between disease incidence and the contents of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen. The above results prove that continuous application of the bio-nursery substrates in greenhouse can effectively control tomato bacterial wilt disease, thus can increase tomato yields.

Key words: Tomato; Yield; Bacterial wilt; Bio-nursery substrate; Rhizosphere beneficial bacteria