

牡蛎壳粉对烟草根际土壤微生物代谢多样性及青枯病发生的影响

沈桂花¹, 刘晓姣¹, 张淑婷¹, 江其朋¹, 丁 伟^{*1,2}

1. 西南大学植物保护学院, 重庆市北碚区天生路2号 400715

2. 重庆烟草科学研究所, 重庆市北碚区天生路2号 400715

摘要:为揭示牡蛎壳粉等土壤改良剂对烟草根际土壤微生物代谢多样性及烟草青枯病发生的影响,通过田间试验,设置牡蛎壳粉、生石灰、草木灰和对照4个处理,研究了不同土壤改良剂对发病地块土壤pH和微生物群落代谢多样性的影响,以及对烟草青枯病的防控效果。结果表明,牡蛎壳粉可以显著提高土壤pH,增强土壤微生物对碳源的利用程度(AWCD),增加微生物代谢多样性(Shannon指数),同时提高土壤微生物群落内物种的均匀度(McIntosh指数)。主成分分析表明,烟草根际土壤微生物群落利用的主要碳源为羧酸类、氨基酸类和碳水化合物类,但不同土壤改良剂处理土壤微生物碳源利用特征存在差异。牡蛎壳粉处理后的地块烟草青枯病发病率最低,较对照降低43.33%。Pearson相关分析表明,土壤pH与土壤微生物代谢多样性指数呈正相关,而与发病率呈负相关。因此,施用土壤改良剂牡蛎壳粉可提高土壤pH和增加土壤微生物代谢多样性,进而提高土壤微生态环境的稳定性,对烟草青枯病起到较好的防控效果。

关键词:牡蛎壳粉;土壤;改良剂;烟草青枯病;微生物;代谢多样性

中图分类号:S572.061 文献标志码:A 文章编号:1002-0861(2017)12-0022-07

Effects of oyster shell powder on metabolic diversity of microorganism in tobacco rhizosphere soil and incidence of bacterial wilt

SHEN Guihua¹, LIU Xiaojiao¹, ZHANG Shuting¹, JIANG Qipeng¹, DING Wei^{*1,2}

1. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

2. Chongqing Tobacco Science Research Institute, Chongqing 400715, China

Abstract: To evaluate the effects of different soil amendments on the metabolic diversity of microorganisms in tobacco rhizosphere soils and the incidence of tobacco bacterial wilt, field experiments were conducted to study the effects of different soil amendments on soil pH and the metabolic diversity of microorganisms and their control efficiencies on tobacco bacterial wilt. Four treatments were set as following: oyster shell powder, quicklime, plant ash and the control. The results showed that oyster shell powder raised soil pH significantly and increased the carbon source utilization by soil microorganisms (Average well color development, AWCD), the metabolic diversity of microorganisms (Shannon index) and the uniformity of species in soil microbial community (McIntosh index). Principal component analysis indicated that carboxylic acids, amino acids and carbohydrates were the main carbon sources utilized by soil microorganisms, however there were some differences in the carbon source utilization characteristics of microorganisms in soils treated by different soil amendments. The incidence of tobacco bacterial wilt in fields treated by oyster shell powder was the lowest,

收稿日期: 2017-02-24 修回日期: 2017-07-28

基金项目: 中国烟草总公司科技重点项目“针对烟草青枯病的根际微生态调控防治机制及关键技术研究”(110201502019)。

作者简介: 沈桂花(1993—),在读硕士研究生,研究方向:天然产物农药。E-mail: shenguihuasgh@163.com; *通讯作者: 丁伟, E-mail: dding818@163.com

引文格式: 沈桂花, 刘晓姣, 张淑婷, 等. 牡蛎壳粉对烟草根际土壤微生物代谢多样性及青枯病发生的影响[J]. 烟草科技, 2017, 50(12): 22-28. (SHEN Guihua, LIU Xiaojiao, ZHANG Shuting, et al. Effects of oyster shell powder on metabolic diversity of microorganism in tobacco rhizosphere soil and incidence of bacterial wilt[J]. Tobacco Science & Technology, 2017, 50(12): 22-28.) DOI: 10.16135/j.issn1002-0861.2017.0078

decreased by 43.33% comparing with that of the control. Pearson correlation analysis suggested that soil pH positively correlated to the metabolic diversity index of soil microorganisms, while negatively correlated to disease incidence. Therefore, the application of oyster shell powder can raise soil pH, promote the metabolic diversity of soil microorganisms and the stability of soil micro-ecology environment, and further achieve better control efficiency on tobacco bacterial wilt.

Keywords: Oyster shell powder; Soil; Amendment; Tobacco bacterial wilt; Microorganism; Metabolic diversity

烟草青枯病是由青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的毁灭性烟草病害^[1],在我国南方烟区普遍发生^[2]。该病原寄主范围广,可侵染 50 多科的 200 多种植物^[3]。目前烟草生产中对烟草青枯病的防治方法主要是选择抗性品种和使用化学农药^[4]。然而,烟草抗病品种的产值和品质劣势限制了其大面积推广应用^[5]。使用化学农药虽然对烟草青枯病具有一定的控制作用^[6],但是长期大量施用化学农药会造成抗药性、再猖獗和农药残留问题。因此,寻找环保、有效的烟草青枯病防控措施具有重要的现实意义。土壤改良剂是用于改善土壤的物理、化学和生物性状的物料,具有改善土壤理化性状、改良盐碱土、改变土壤微生态等诸多优点^[7],因此受到了国内外研究者的广泛关注。刘顺梅等^[8]研究表明,牡蛎壳能明显促进北沙参对土壤养分的吸收和利用,从而促进植物对营养物质的吸收和利用;生石灰通过提高土壤 pH 及土壤中磷肥的有效性从而促进根系发育,有效促进了烟株的生长^[9];张国等^[10]采用盆栽与室内分析方法研究了白云石粉对酸性植烟土壤的改良效果,结果表明白云石粉粒径越细且用量越高,对酸性土壤改良效果越好;另有研究^[11]发现,硅作为改良剂可显著降低番茄青枯病的发病率;Li 等^[12]在温室条件下添加矿物粉,可使番茄青枯病的防效达到 89.99%;He 等^[13]研究发现,碳酸钙通过抑制 *Ralstonia solanacearum* 的生长显著降低了番茄青枯病的发病率。以上研究表明,土壤改良剂的研究大多集中在通过室内试验改良土壤理化性状或防治植物病害方面,而涉及不同土壤改良剂对烟草根际微生物代谢多样性及田间烟草青枯病发生的影响方面的报道较少。为此,通过田间小区试验,比较了牡蛎壳粉、生石灰和草木灰对烟草青枯病发病率的影响,并对土壤 pH 和微生物代谢多样性进行了分析,旨在筛选出适宜的土壤改良剂,为烟草青枯病的有效防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试烟草品种为云烟 87。改良剂为草木灰、

生石灰和牡蛎壳粉。草木灰为烟草等秸秆燃烧后的产物,pH 7.3,钾 14 500.0 mg/kg。生石灰主要成分 CaO,pH 10.4;牡蛎壳粉购自河北省渤海新区海兴海之源饲料有限公司,pH 9.5,钙 98.9%,蛋白质 0.5%,粗脂肪 0.1%,锰 81.0 mg/kg,锌 2.9 mg/kg,铁 285.0 mg/kg,钾 214.0 mg/kg,镁 2 040.0 mg/kg,磷 48.0 mg/kg。

1.2 试验设计

试验于 2015 年在重庆市彭水县润溪乡白果坪试验田(38°39'27.97"N、104°04'58.66"E)进行,该区为青枯病易发区。土壤类型为黄壤,pH 4.9,有机质 38.1 g/kg,全碳 22.1 g/kg,全磷 1.15 g/kg,全钾 12.5 g/kg,碱解氮 158 mg/kg,有效磷 71 mg/kg,速效钾 860 mg/kg。选择青枯病发病严重的田块,设置 4 个处理,分别为草木灰、生石灰、牡蛎壳粉和对照,每处理 3 次重复,每小区面积约 110 m²。对照按常规施用当地烟草专用复合肥(N:P₂O₅:K₂O = 8:10:22)750 kg/hm²,处理在对照基础上各增施草木灰、生石灰和牡蛎壳粉 1 200 kg/hm²作基肥,在翻地整畦前均匀撒施。烟苗于 2015 年 5 月 16 日移栽。

1.3 样品采集

烟草移栽前且未施用土壤改良剂(4月30日)时第一次采集土壤样品用于测定土壤基本理化性质;烟草青枯病发病高峰期(7月15日)进行第二次土壤样品采集,采用 5 点取样法,去掉 0~5 cm 表土后轻轻抖落烟株根系周围土壤,然后用毛刷刷下黏附在根表的土壤(即根际土)。田间采集的土壤样品用新的塑料封口袋封装,放置于冰盒内,带回实验室过 2 mm 筛。一部分用于土壤微生物群落代谢多样性测定,另一部分土样风干用于测定土壤 pH。

1.4 测定方法

用 pH 计法(水土比为 1:2.5)测定土壤 pH。于烟草青枯病发病高峰时进行调查(7月15日),采用 5 点取样法,每点调查 5 株。按标准方法调查病害发生情况并计算发病率^[14]。

发病率=(发病株数/调查总株数)×100%

参照 Sala 等^[15]的方法,采用 31 种碳源的

Biolog-ECO 微平板法测定微生物多样性^[16]。将 Biolog-ECO 微平板(美国 Biolog 公司)预热到 28 ℃,用排枪取 150 μL 抽取液于各孔中,28 ℃ 恒温培养,在 0、24、48、72、96、120、144、168 h 用酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)检测读数,相对吸光度值测定波长为 590 nm。微生物代谢强度采用每孔颜色平均变化率 AWCD 来描述。

$$AWCD = \sum (C_i - R) / n \quad (1)$$

参照 Kirk^[17]的方法计算土壤微生物群落代谢多样性指数,选取 120 h 的数据进行 Shannon 指数(H)、Simpson 指数(D)、McIntosh 指数(U)的计算。

$$H = -\sum P_i \ln P_i \quad (2)$$

$$D = 1 - \sum P_i^2 \quad (3)$$

$$U = \sqrt{\sum n_i^2} \quad (4)$$

式中: C_i 为第 i 个碳源孔 OD 值; R 为对照孔 OD 值,若 $C_i - R \leq 0$,计为 0; n 为培养基孔数(Biolog Eco 板为 31); n_i 是第 i 孔的相对吸光度值; P_i 为 n_i 与整个平板相对吸光值总和的比率。

1.5 数据处理

采用 SPSS 16.0 软件进行 ANOVA 方差分析、Pearson 相关分析和主成分分析,采用 Origin 9.0 软件制图。

2 结果

2.1 土壤改良剂对土壤 pH 及烟草青枯病的影响

从图 1 可以看出,土壤改良剂处理能显著提高土壤的 pH,对土壤 pH 的改良效果依次为牡蛎壳粉>生石灰>草木灰。以牡蛎壳粉提高幅度较大,较对照提高 19.4%。生石灰次之,较对照提高 12.6%。不同处理对烟草青枯病也有显著的控制效果,牡蛎壳粉处理的控制效果最好,烟株发病率最低为 46.11%,与对照相比发病率降低 43.33%。生石灰处理次之,与对照相比发病率降低 32.77%,

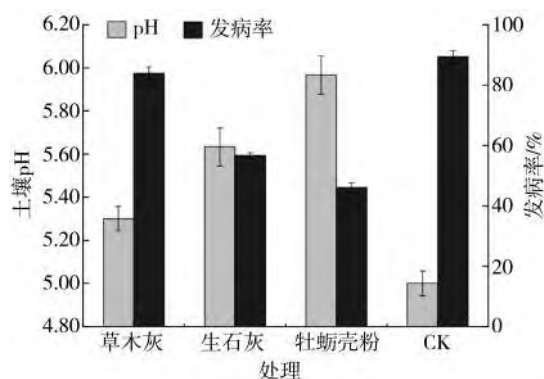


图 1 土壤改良剂处理对土壤 pH 及发病率的影响

Fig.1 Effects of soil amendments on soil pH and disease incidence

草木灰与对照间差异不显著。烟草青枯病发病率与土壤 pH 的相关分析结果(图 2)表明,烟草青枯病发病率与 pH 存在显著负相关($r = -0.93$, $P < 0.05$)。说明在酸性条件下(pH 4.75 ~ 6.25),随着 pH 的降低,烟草青枯病发病率逐渐增加。因此,对于青枯病发生严重的酸化土壤,施用土壤改良剂能有效提高土壤 pH 进而防控烟草青枯病,且牡蛎壳粉的防控效果最好。

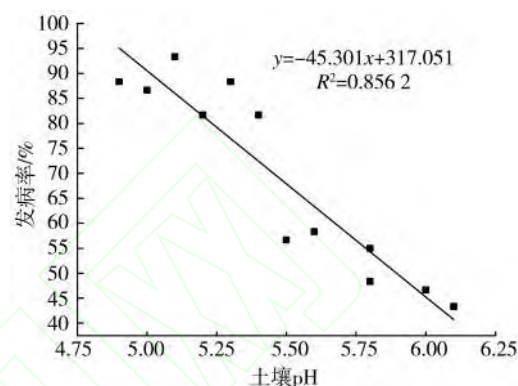


图 2 烟草青枯病发病率与土壤 pH 的关系

Fig.2 Relationship between incidence of tobacco bacterial wilt and soil pH

2.2 土壤改良剂对土壤微生物群落代谢多样性的影响

2.2.1 土壤改良剂处理土壤微生物培养过程中的平均颜色变化率

平均颜色变化率(AWCD)作为微生物整体活性的有效指标,反映了土壤微生物群落对碳源的利用情况。AWCD 值越大,活性越高;反之,活性越低^[18]。图 3 表明,处理的土壤微生物群落 AWCD 值均随着时间的增加而增加,前 120 h 快速增长,120 h 后增长速度逐渐减慢。从整体来看变化大小依次为牡蛎壳粉>生石灰>草木灰>对照。

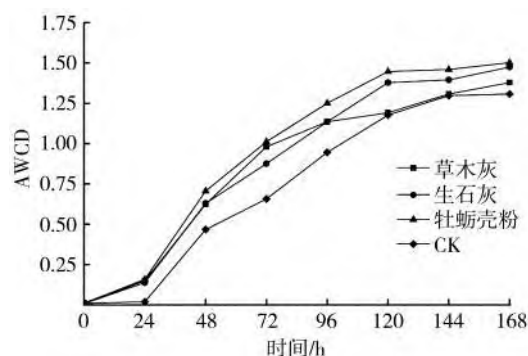


图 3 土壤微生物群落 AWCD 随着培养时间的变化

Fig.3 Variation of AWCD of soil microbial community along with different incubation time

通过对 120 h 时的 AWCD 值方差分析(表 1),牡蛎壳粉、生石灰和草木灰处理土壤 AWCD 值分别是对照的 1.229、1.171 和 1.012 倍。由此可见,牡蛎壳粉处理的微生物活性最高,其次是生石灰处理,而草木灰处理最低。

2.2.2 土壤改良剂对土壤微生物群落代谢多样性指数的影响

碳源代谢的多样性指数可以反映微生物群落代谢多样性变化^[19]。Shannon 多样性指数是研究群落物种数及其个体数和分布均匀程度的综合指标^[20]。Simpson 优势度指数用于评估某些最常见种的优势度,McIntosh 指数是群落内物种均一性的度量^[21]。

利用培养 120 h 的土壤微生物群落 AWCD 值

进行多样性分析,结果(表 1)显示,土壤改良剂处理对 Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数和 120 h AWCD 值均有影响。牡蛎壳粉处理的 Shannon 指数最高,显著高于对照和草木灰处理,牡蛎壳粉处理较对照和草木灰处理分别增加 4.02%、3.63%。生石灰与其余 3 个处理之间差异不显著。施用土壤改良剂均能显著增加 Simpson 指数,牡蛎壳粉处理=生石灰处理>草木灰处理>对照。与多样性指数类似,牡蛎壳粉处理的 McIntosh 指数最高,较对照增加 14.3%。草木灰处理的 McIntosh 指数最低,与生石灰处理和对照无显著差异。综上所述,牡蛎壳粉的应用可以提高土壤微生物群落的多样性,同时提高微生物物种的均匀度。

表 1 土壤 AWCD 值和微生物群落代谢多样性指数^①
Tab.1 Soil AWCD and metabolic diversity index of microbial community

处理	AWCD	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数
草木灰	1.191±0.049a	3.249±0.025a	0.960±0.000a	7.477±0.253a
生石灰	1.378±0.051b	3.304±0.021ab	0.963±0.000b	8.310±0.292ab
牡蛎壳粉	1.447±0.053b	3.367±0.030b	0.963±0.000b	8.612±0.250b
CK	1.177±0.049a	3.237±0.018a	0.958±0.000c	7.535±0.285a

注:①同列不同小写字母表示处理间差异达到 $P<0.05$ 显著水平。

2.2.3 土壤改良剂处理的土壤微生物群落主成分分析

采用培养 120 h 的 AWCD 值对不同土壤改良剂处理的土壤微生物利用单一碳源特性进行主成分分析(图 4),31 个成分因子中前 8 个的累积方差贡献率达到 93.72%。选取方差贡献率最高的前两个主成分 PC1(第 1 主成分)和 PC2(第 2 主成分)进行微生物群落功能多样性分析。主成分分析结果(图 4)表明,不同土壤改良剂处理碳源利用在 PC 轴上差异显著,在 PC1 轴上,生石灰处理和牡蛎壳粉处理分布在正方向上,而草木灰处理和 CK 分布在负方向上;在 PC2 轴上,生石灰处理和 CK 分布在正方向上,而草木灰处理和牡蛎壳粉处理分布在负方向上。牡蛎壳粉处理与对照存在明显的分布差异,这表明牡蛎壳粉在生物群落功能性方面与对照具有明显差异,牡蛎壳粉能显著增强土壤中微生物群落的功能性。

载荷值可以用来表征原始变量与各主成分的相关性,载荷值越大表明原始变量对该主成分的贡献越大^[21]。根据 PCA 因子载荷得分表(表 2,载荷值 ≥ 0.60 或 ≤ -0.60)可以看出,对 PC1 贡献大的

碳源有 13 个,主要包括羧酸类(5 个)、氨基酸类(3 个)和碳水化合物类(3 个),而与 PC2 具有较高相关性的碳源有 5 个,主要包括氨基酸类(2 个)和碳水化合物类(1 个)。羧酸类、氨基酸类和碳水化合物类是微生物利用的主要碳源。因此,导致不同土壤改良剂处理的土壤微生物群落代谢多样性差异的主要碳源为羧酸类,其次是氨基酸类和碳水化合物类。

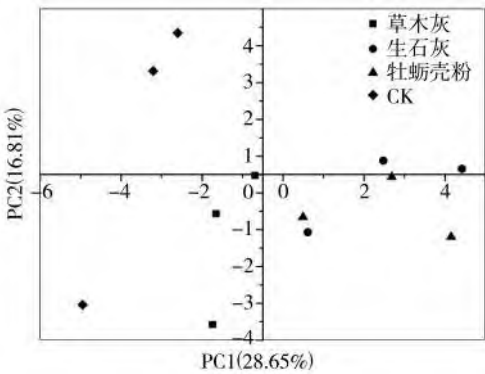


图 4 土壤微生物群落碳源利用的主成分分析
Fig.4 Principal component analysis of carbon source utilization of soil microbial community

表 2 PC1 和 PC2 相关的主要碳源
Tab.2 Main carbon sources related to PC1 and PC2

主成分	物质	种类	相关系数
PC1	D-半乳糖酸-γ-内酯	羧酸类	0.66
	D-木糖	碳水化合物类	0.75
	L-天冬酰胺	氨基酸类	0.63
	吐温 40	聚合物	0.62
	I-赤藓糖醇	碳水化合物类	0.63
	D-甘露醇	碳水化合物类	0.73
	L-丝氨酸	氨基酸类	0.65
	γ-羟基丁酸	羧酸类	0.81
	衣康酸	羧酸类	0.83
	甘氨酸-L-谷氨酸	氨基酸类	0.73
	α-丁酮酸	羧酸类	0.72
	D-苹果酸	羧酸类	0.62
	L-苯丙氨酸	氨基酸类	0.67
	N-乙酰-D-葡萄糖氨	碳水化合物类	-0.73
PC2	L-苏氨酸	氨基酸类	0.71
	D-葡萄糖胺酸	羧酸类	0.67
	D,L-α-磷酸甘油	其他类	-0.69

2.3 土壤 pH 及烟草青枯病发病率与微生物学指标的相关性

土壤 pH 及烟草青枯病发病率与土壤微生物学指标间的相关性分析结果见表 3。从表 3 中可以看出,土壤 pH 与 AWCD 值、Shannon 指数、Simpson 指数及 McIntosh 指数呈正相关,且相关性均达极显著水平。土壤 pH 与 Simpson 指数的相关性越高,说明 pH 对土壤某些最常见种的优势度影响最大。相反,烟草青枯病发病率与微生物学指标均呈极显著负相关,且与 McIntosh 指数相关性最高,说明土壤微生物群落内物种均一性对烟草青枯病发生的影响最大。土壤 pH 是影响微生物的代谢活性和群落多样性的因素之一,土壤 pH 越高,土壤微生物的代谢活性和群落多样性越高。此外,土壤微生物群落多样性的降低与烟草青枯病的发生显著相关。

表 3 土壤 pH 与微生物学指标的相关性^①
Tab.3 Correlation between soil pH and microbial parameters

指标	AWCD 值	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数
pH	0.82**	0.82**	0.88**	0.74**
发病率	-0.83**	-0.80**	-0.76**	-0.91**

注:①**表示相关性达到 $P<0.01$ 显著水平。

3 讨论

本研究中发现,土壤 pH 与烟草青枯病发生有密切关联,较高的土壤 pH 能显著降低烟草青枯病发病率。土壤酸化一方面导致烟草抗性的降低,另一方面使青枯菌的致病性增强,因此推测土壤 pH 是诱发青枯病的重要因素之一^[22]。施河丽等^[23]通过在酸性土壤上施用生石灰和草木灰,发现移栽后 60 d 草木灰处理的土壤 pH 显著高于生石灰,这与本研究的结果不同。可能原因是本研究草木灰的用量为 1 200 kg/hm²,用量较少导致对土壤酸化的改良效果不及生石灰。李昂等^[24]通过盆栽实验表明用量为 0.2% 和 0.4% 的牡蛎壳粉均能显著提高土壤 pH,但并没有做进一步的大田试验验证。本试验结果表明,用量为 1 200 kg/hm² 的牡蛎壳粉可以显著提高土壤 pH,较对照提高了 19.4%。

本研究中利用 Biolog-ECO 方法分析发现,施加牡蛎壳粉的土壤微生物群落 AWCD 在各时期均高于对照,说明牡蛎壳粉的添加促进了烟草根际土壤微生物群落对碳源的代谢能力。Irikiin 等^[25]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到了重要作用。牡蛎壳粉的施加使微生物群落在 Shannon 指数、Simpson 指数及 McIntosh 指数与对

照间均出现了明显差异,表明牡蛎壳粉促进了根际土壤微生物的生长,进而增加了微生物群落多样性。有研究表明,土壤微生物多样性的提高有利于抑制病原菌^[26]。

相关分析结果表明,土壤 pH 是影响微生物的代谢活性和群落多样性的因素之一,同时烟草青枯病发病率显著受到根际土壤微生物代谢多样性的影响。因本试验中没有检测不同处理土壤中青枯菌的数量,故土壤改良剂对病原菌的影响尚不明确。土壤中青枯菌的数量是烟草植株发病的必要条件,且本研究中也发现烟草青枯病的发生与土壤 pH 和根际土壤微生物密切相关。下一步将利用高通量测序技术研究土壤 pH、根际土壤微生物结构多样性和烟草青枯病之间的关系,筛选特定的微生物群并加以利用,从而达到有效防止青枯病的目的。

4 结论

不同土壤改良剂对烟草根际土壤 pH 和微生物功能多样性的影响存在差异,牡蛎壳粉显著提高了土壤 pH,提高根际土壤微生物对碳源的利用能力和微生物多样性。此外,土壤烟草青枯病发病率受土壤 pH 和根际土壤微生物功能多样性的显著影响。牡蛎壳粉主要通过提高土壤 pH 和土壤微生物功能多样性,增强土壤微生态环境的稳定性,从而对烟草青枯病起到较好的控制效果。

参考文献

- [1] Qian Y L, Wang X S, Wang D Z, et al. The detection of QTLs controlling bacterial wilt resistance in tobacco (*N. tabacum* L.) [J]. *Euphytica*, 2013, 192(2): 259–266.
- [2] 孔凡玉. 烟草青枯病的综合防治 [J]. *烟草科技*, 2003 (4): 42–43, 48.
KONG Fanyu. Integrated control of tobacco bacterial wilt disease [J]. *Tobacco Science & Technology*, 2003 (4): 42–43, 48.
- [3] Genin S, Denny T P. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2012, 50(1): 67–89.
- [4] Wu K, Yuan S F, Wang L L, et al. Effects of bio-organic fertilizer plus soil amendment on the control of tobacco bacterial wilt and composition of soil bacterial communities [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(6): 961–971.
- [5] 刘勇, 范江, 李永平. 烟草抗青枯病育种研究进展 [J]. *中国烟草学报*, 2012, 18(6): 93–99.
LIU Yong, FAN Jiang, LI Yongping. Research progress in breeding of tobacco resistant to bacterial wilt [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2012, 18(6): 93–99.
- [6] 李大鹏, 朱三荣. 链霉素不同施用方法对烟草青枯病的防效 [J]. *植物保护*, 2008, 34(4): 151–153.
LI Dapeng, ZHU Sanrong. Effect of different application methods of streptomycin on tobacco bacterial wilt [J]. *Plant Protection*, 2008, 34(4): 151–153.
- [7] 孙蓓蓓, 王旭. 土壤调理剂的研究和应用进展 [J]. *中国土壤与肥料*, 2013(1): 1–7.
SUN Jifeng, WANG Xu. Advance in research and application of soil conditioner [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2013(1): 1–7.
- [8] 刘顺梅. 牡蛎壳土壤调理剂对北沙参生理生化影响的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
LIU Shunmei. Studies on the effect of oyster shell soil remediation on the physiologic and biochemical activities of *Glehnia littoralis* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2004.
- [9] 杨晓, 汪林, 郭应成, 等. 增施生石灰对红花大金元生长及土传病害防控的影响 [J]. *湖南农业科学*, 2014 (19): 26–28.
YANG Xiao, WANG Lin, GUO Yingcheng, et al. Effects of quick lime application on tobacco variety Honghuadajinyuan growth and soil borne disease control [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2014(19): 26–28.
- [10] 张国, 朱启法, 郭熙盛, 等. 皖南烟区白云石粉对酸性植烟土壤的改良研究 [J]. *土壤*, 2014, 46(3): 534–538.
ZHANG Guo, ZHU Qifa, GUO Xisheng, et al. Amelioration of dolomite on acidity of flue-cured tobacco soil in South Anhui [J]. *Soils*, 2014, 46(3): 534–538.
- [11] Dannon E A, Wydra K. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2004, 64 (5): 233–243.
- [12] Li J G, Dong Y H. Effect of a rock dust amendment on disease severity of tomato bacterial wilt [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2013, 103(1): 11–22.
- [13] He K, Yang S Y, Li H, et al. Effects of calcium carbonate on the survival of *Ralstonia solanacearum* in soil and control of tobacco bacterial wilt [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2014, 140(4): 665–675.
- [14] GB/T 23222—2008 烟草病虫害分级及调查方法 [S].
GB/T 23222—2008 Grade and investigation method of tobacco diseases and insect pests [S].
- [15] Sala M M, Pinhassi J, Gasol J M. Estimation of bacterial use of dissolved organic nitrogen compounds in aquatic ecosystems using Biolog plates [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, 42(1): 1–5.
- [16] Gamo M, Shoji T. A method of profiling microbial

- communities based on a most-probable-number assay that uses BIOLOG plates and multiple sole carbon sources[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(10):4419-4424.
- [17] Kirk J L, Beaudette L A, Hart M, et al. Methods of studying soil microbial diversity[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, 58(2):169-188.
- [18] 孔滨, 杨秀娟. Biolog生态板的应用原理及碳源构成[J]. *绿色科技*, 2011(7):231-234.
- KONG Bin, YANG Xiujuan. Application principle and carbon source composition of Biolog ecological plate[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2011(7):231-234.
- [19] 周德平, 褚长彬, 范洁群, 等. 不同种植年限设施芦笋土壤微生物群落结构与功能研究[J]. *土壤*, 2014, 46(6):1076-1082.
- ZHOU Deping, CHU Changbin, FAN Jiequn, et al. Microbial community structure and function in greenhouse soils of asparagus[J]. *Soils*, 2014, 46(6):1076-1082.
- [20] Zhong W H, Cai Z C. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay[J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 36(2/3):84-91.
- [21] 胡君利, 林先贵, 尹睿, 等. 浙江慈溪不同利用年限水稻土主要微生物过程强度的比较[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(1):174-179.
- HU Junli, LIN Xiangui, YIN Rui, et al. Comparison of microbial processes in paddy soils of different ages in Cixi, Zhejiang[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(1):174-179.
- [22] Li S L, Liu Y Q, Wang J, et al. Soil acidification aggravates the occurrence of bacterial wilt in South China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:703.
- [23] 施河丽, 向必坤, 彭五星, 等. 调节植烟土壤酸度防控烤烟青枯病[J]. *中国烟草学报*, 2015, 21(6):50-53.
- SHI Heli, XIANG Bikun, PENG Wuxing, et al. The prevention and control of tobacco bacterial wilt by regulating soil acidity[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2015, 21(6):50-53.
- [24] 李昂. 四种土壤调理剂对酸性土壤铝毒害改良效果研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- LI Ang. Remediate effects on aluminum toxicity by using four soil conditioners in acid soils[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.
- [25] Irikiin Y, Nishiyama M, Otsuka S, et al. Rhizobacterial community-level, sole carbon source utilization pattern affects the delay in the bacterial wilt of tomato grown in rhizobacterial community model system[J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, 34(1):27-32.
- [26] 胡可, 李华兴, 卢维盛, 等. 生物有机肥对土壤微生物活性的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2010, 18(2):303-306.
- HU Ke, LI Huaxing, LU Weisheng, et al. Effect of microbial organic fertilizer application on soil microbial activity[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(2):303-306.

责任编辑 董志坚