

产脂肽菌株发酵生物有机肥的生物防治与促生作用研究*

朱震 张国漪 徐阳春 杨兴明 冉炜[†] 沈其荣

(南京农业大学资源与环境科学学院江苏省固体有机废弃物资源化高新技术研究重点实验室, 南京 210095)

摘要 选取对番茄青枯菌有明显抑制作用的产脂肽菌株 XZ-173, 与有机肥混合发酵制成生物有机肥。通过温室盆栽试验, 评价了该生物有机肥对番茄青枯病的防治效果及对番茄的促生效用。结果表明, 生物有机肥能够显著降低青枯病发病率, 相对防效达 56.8%。与施用化肥和未添加 XZ-173 的有机肥处理相比, 施用该生物有机肥能显著提高番茄植株叶绿素含量、番茄地上部和地下部生物量、根际土壤细菌和放线菌数量, 显著降低根际土壤中真菌数量。生物有机肥的有益效果使其在作物种植中具有广阔的应用前景。

关键词 青枯病; 脂肽; 生物有机肥; 番茄; 生物防治; 促生作用

中图分类号 S436.412.15; S474.3

文献标识码 A

青枯病是由茄科雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*) 引起的一种全世界广泛分布的细菌性土传病害^[1-2]。茄科雷尔氏菌的寄主广泛, 危害严重, 它能够侵染 50 个科的 200 余种植物^[3], 一些重要的经济作物如番茄、土豆、烟草等易感染青枯病而使得产量大幅度降低, 造成严重的经济损失^[4]。有报道显示, 在热带和亚热带的高原及盆地地区, 青枯菌可造成番茄减产 75% ~ 100%^[5]。近几十年来, 国内外许多学者对青枯病进行了大量而深入的研究, 但至今仍未找到理想的防治措施^[6]。所以, 开发切实可行的青枯病防治技术已成为科研工作者研究的热点之一。

茄科雷尔氏菌存在较大的遗传变异, 目前尚无有效的化学防治方法^[7]。常用的防治措施如抗性育种、田间清除、作物轮作、综合管理等由于青枯病害系统的复杂性^[8-9]而成效甚微^[10]。大量研究表明, 可以通过在土壤中添加拮抗细菌^[11-12]和真菌^[13]达到防治青枯病的目的, 但土著微生物对外源微生物有很强的排斥作用, 拮抗菌进入土壤后, 存活能力下降, 生防效果并不理想^[14]。随着农田土壤利用集约化程度提高, 土壤退化越来越严重^[15], 施用有机肥可以改善土壤养分状况^[16], 提高土壤微生物多样性和土壤健康质量指标^[17], 从而实现对土传病害

的有效防治。利用农业固体废弃物资源化工工艺研制的生物有机肥, 不仅可以充分利用农业固体废弃物如畜禽粪便、菇渣、油粕和秸秆等, 又可以防治土传病害, 改善土壤品质, 促进作物生长, 是兼顾农业生产和环境保护双重目的的有效途径^[18]。

脂肽为亲水亲脂的两性分子, 是功能强大的表面活性剂, 能够改变细胞膜通透性, 具有广谱的抗真菌和抑制部分细菌的活性^[19]。本文选取对番茄青枯病病原菌有较强抑制作用, 并能大量产脂肽类表面活性剂的菌株 XZ-173, 将其与农业固体有机废弃物混合发酵制成生物有机肥, 用来防治青枯病害。在温室盆栽实验中研究了该生物有机肥对番茄青枯病的防治效果以及对番茄植株生长和根际土壤微生物群落的影响。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

实验用番茄青枯病病原菌 (茄科雷尔氏菌) 由江苏省固体有机废弃物资源化高新技术研究重点实验室提供。该病原菌分离自发病番茄植株茎部, 并经 TTC 平板和回接实验测定其致病力。功能菌株 XZ-173 是从健康番茄根际土壤中分离到的一株解

* 农业部公益性行业科技专项 (201103004) 和科技部 863 项目 (2010AA10Z401) 共同资助

[†] 通讯作者, E-mail: ranwei@njau.edu.cn

作者简介: 朱震 (1987—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为农业固体有机废弃物资源化利用。E-mail: zzenabed@126.com

收稿日期: 2010-11-24; 收到修改稿日期: 2011-07-08

淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*),该菌生长速度快,能够在土壤中较好繁殖,具有较强的产脂肽和蛋白酶能力^[20],且对茄科雷尔氏菌表现出很好的抑制效果。菌株的实验室保存方法为:挑取菌株 XZ-173 单菌落接种于 LB 液体培养基,170 r min⁻¹,30℃ 摇床培养 24 h 后与 20% 甘油等体积混合,-70℃ 超低温冰箱保藏。试验用培养基:TTC, LB, NA, 马丁氏,改良高氏一号,配方参考文献[21]。

1.2 菌株产脂肽能力定性分析

将菌株 XZ-173 接种于 50 ml 液体 LB 培养基中,170 r min⁻¹,30℃ 摇床培养 48 h,10 000 r min⁻¹ 离心 15 min 去除菌体;上清液用 6 mol L⁻¹ HCl 调节 pH 至 2.0,出现白色絮状沉淀,4℃ 静置过夜,再以 10 000 r min⁻¹ 离心 20 min 收集沉淀;用 pH2.0 HCl 洗涤 3 次,将沉淀溶于无菌水中,用 NaOH 调 pH 至 7.0,冷冻干燥得脂肽粗品^[22]。

1.2.1 薄层层析(TLC)测定 取表面活性剂粗品,溶于甲醇中,样品点在硅胶板上,采取只点样不展层的方法进行分析,用茚三酮试剂显色:0.5% 茚三酮丙酮溶液,脂肽类显红紫色^[23]。

1.2.2 红外光谱(FT-IR)测定 将表面活性剂粗品用 KBr 压片,采用 ThermoFisher IS10 红外光谱仪分析样品组成。

1.3 供试作物和土壤

供试作物为番茄(*Solanum lycopersicum* L.),品种是合作 903。土壤取自宜兴市陆平村田间水稻土。

1.4 菌株拮抗活性的测定

1.4.1 青枯菌菌悬液的制备 在 TTC 平板上挑取病原菌菌株,接入液体 NA 培养基中,30℃、170 r min⁻¹ 摇床培养至对数期,用无菌水将菌悬液稀释至 10⁶~10⁷ cfu ml⁻¹,即制得实验用病原菌菌悬液。

1.4.2 功能菌对病原菌抑制活性的测定 在 NA 固体培养基平板上用无菌牙签点接功能菌株,放入 30℃ 培养箱中培养 24 h,取出平板,于平板上喷洒病原菌菌悬液,再在 30℃ 培养箱内放置 2 d 后测量功能菌菌落和抑菌圈大小。试验重复 3 次。

1.4.3 脂肽粗品对青枯菌抑制活性的测定 将制得的脂肽类表面活性剂粗品溶于无菌水中,分别制成 2 000 mg L⁻¹,1 500 mg L⁻¹ 和 1 000 mg L⁻¹ 的粗脂肽溶液,溶液过 0.22 μm 滤膜除菌保存。吸取 100 μl 采用牛津杯对峙法测量不同浓度粗脂肽溶液抑菌圈大小,每个处理重复 3 次。

1.5 土壤微生物数量的测定

根际土壤可培养微生物采用稀释平板计数法计数,细菌培养采用牛肉膏蛋白胨培养基(NA),真菌采用马丁氏培养基,放线菌采用高氏一号培养基。

1.6 温室盆栽实验

1.6.1 生物有机肥 将堆制腐熟的猪粪与氨基酸有机肥按质量比 1:1 混合制成普通有机肥(OF),该有机肥料含全氮 58.1 g kg⁻¹、全磷 10.8 g kg⁻¹ 和全钾 16.6 g kg⁻¹。将拮抗菌 XZ-173 的菌悬液按 20% (体积质量比) 的量加入到 OF 中,经二次发酵堆肥制成生物有机肥(BOF),该生物有机肥含全氮 58.9 g kg⁻¹、全磷 11.5 g kg⁻¹ 和全钾 16.7 g kg⁻¹。

1.6.2 番茄幼苗的培育 番茄种子用 0.3% H₂O₂ 表面消毒 2~3 min 后,清水洗净,在 25℃ 光照培养箱中催芽露白,播入育苗盘中,待长出 3 片真叶时移入钵中进行盆栽试验。

1.6.3 生物有机肥对番茄青枯病的防治效果 盆栽试验(1) 钵中装入 5 kg 水稻土,在土中加入番茄青枯病原菌菌悬液,充分混匀,使病原菌浓度达到 10⁶ cfu g⁻¹ 土以上,按 0.5% (质量比) 的比例拌入有机肥。实验共设 2 个处理,每个处理 15 次重复,设计如下:处理 1 为对照(OF),拌入未添加拮抗菌的有机肥(猪粪与氨基酸有机肥按质量比 1:1 混合);处理 2 施入含拮抗菌的生物有机肥 BOF。分别在盆栽种植 30 d 和 50 d 时统计番茄青枯病发病率,待番茄生长 50 d 后测定番茄植株株高,地上部鲜重,地下部鲜重。

1.6.4 生物有机肥促进番茄植株生长的效果

盆栽试验(2) 钵中装入 5 kg 水稻土,以 0.5% (质量比) 的比例拌入有机肥,不加入任何病原菌。试验共设 4 个处理,试验重复 10 次。4 个处理为:CK 为不施任何肥料;F 为施氮磷钾化肥(每盆施入尿素 3.16 g,过磷酸钙 1.17 g,氯化钾 0.79 g);OF 为施入未添加拮抗菌的普通有机肥(猪粪与氨基酸有机肥按质量比 1:1 混合);BOF 为施入拮抗菌 XZ-173 二次发酵制成的生物有机肥处理。施化肥处理氮磷钾含量与 BOF 相等,OF 每盆添加 0.06 g 尿素,0.07 g 过磷酸钙补齐,化肥和有机肥均为一次性施入。分别在盆栽种植 30 天和 50 天时统计不同处理生物量,在第 10 天、20 天、30 天、50 天时测量不同处理番茄植株叶片叶绿素含量,采集种植 50 天的番茄植株根际土壤调查微生物种群数量。

1.6.5 叶绿素含量的测定 随机选取同一处理不同植株的叶片,使用 SPAD-502 叶绿素测定仪,将

叶片放入仪器测量头部,关闭测量头,按指压台,记录显示结果,测量3次取平均值,每个处理重复4次。

1.7 数据分析

数据统计分析使用 SPSS13.0 统计软件完成,不同处理间差异显著性检验采用邓肯氏新复极差法,利用 Microsoft Excel 作图。

2 结果与分析

2.1 脂肽定性分析结果

2.1.1 薄层层析定性分析 菌株 XZ-173 的表面活性剂粗品的 TLC 检测结果如图 1 所示。可以看出,在硅胶板上点样不展层,产物经茚三酮显色反应为红紫色,初步鉴定提取的表明活性剂粗品为脂肽类物质,表明菌株 XZ-173 具有产脂肽类表面活性剂的能力。

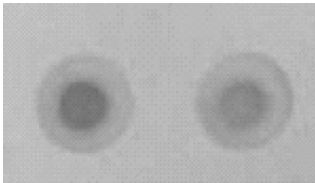


图 1 菌株 XZ-173 产生的表面活性剂粗品的 TLC 显色结果

Fig. 1 TLC color result of the crude biosurfactant produced by strain XZ-173

2.1.2 FT-IR 定性分析 提取菌株 XZ-173 发酵液中的脂肽组分,冷冻干燥后进行 FT-IR 分析,结果如图 2 所示。在 IR 图谱上, $3\ 411.37\ \text{cm}^{-1}$ 是由分子链间氢键引起的 NH 伸缩谱带, $1\ 649.76\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 551.66\ \text{cm}^{-1}$ 分别为酰胺谱带 I 和 II,这些特征吸收表明样品中含有肽链。谱图上 $2\ 960 \sim 2\ 860\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 455 \sim 1\ 380\ \text{cm}^{-1}$ 两处吸收是脂肪酸链的 C-H 伸缩振动, $1\ 236.02\ \text{cm}^{-1}$ 为内酯的特征吸收,表明样品含有脂肪酸分子,从而证明该样品为脂肽类物质。

2.2 功能菌对青枯菌的抑菌效果

菌株 XZ-173 对青枯菌的抑制效果如图 3 所示。可以看出,菌株 XZ-173 对青枯菌表现出较高的抑制活性,抑菌圈明显,结合表 1 结果可知,该菌株抑菌圈直径平均达 $16.5\ \text{mm}$,且生长速度快,具有较好的生防潜力。提取菌株 XZ-173 代谢产生的粗脂肽类物质,发现粗脂肽同样对青枯菌具有很强的拮抗能力(图 4),表 1 结果显示,不同浓度粗脂肽溶液产生的抑菌圈分别为 $18.8\ \text{mm}$ ($2\ 000\ \text{mg L}^{-1}$)、 $16.3\ \text{mm}$

($1\ 500\ \text{mg L}^{-1}$)、 $14.4\ \text{mm}$ ($1\ 000\ \text{mg L}^{-1}$),浓度越高,抑菌能力越强。

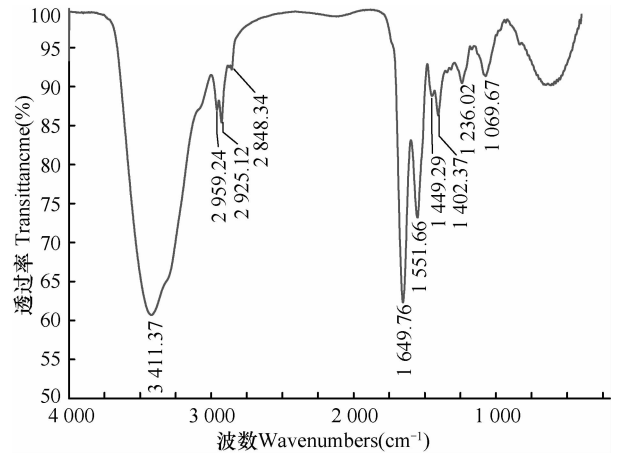


图 2 菌株 XZ-173 产生的粗脂肽物质的红外吸收光谱图

Fig. 2 IR graph of crude lipopeptide produced by strain XZ-173

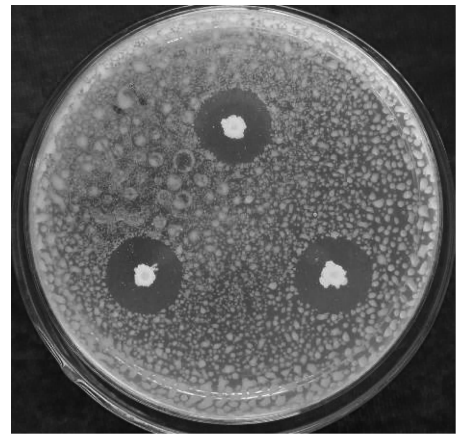


图 3 菌株 XZ-173 对青枯菌的抑菌效果

Fig. 3 Inhibition effect of strain XZ-173 on *Ralstonia solanacearum*

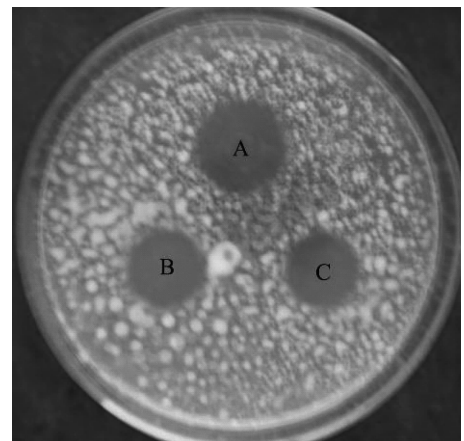


图 4 粗脂肽溶液对青枯菌的抑菌效果

Fig. 4 Inhibition effect of crude lipopeptide on *Ralstonia solanacearum* (A. $2\ 000\ \text{mg L}^{-1}$; B. $1\ 500\ \text{mg L}^{-1}$; C. $1\ 000\ \text{mg L}^{-1}$)

表 1 菌株 XZ-173 以及粗脂肽溶液对青枯菌的抑菌能力

Table 1 Antagonistic effects of strain XZ-173 and crude lipopeptide to *Ralstonia solanacearum*

菌株 Strain	菌落直径 Colony diameter (mm)	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter (mm)
XZ-173	4.1 ± 0.1	16.5 ± 0.3b

粗脂肽浓度 Concentration of crude lipopeptide (mgL ⁻¹)	菌落直径 Colony diameter (mm)	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter (mm)
2 500	—	18.8 ± 0.3a
2 000	—	16.3 ± 0.2b
1 500	—	14.4 ± 0.3c

注:数字后字母表示显著差异($p < 0.05$)。下同 Note: Means followed by the same letter within a column are not significantly different ($p < 0.05$). The same below

2.3 生物有机肥防治番茄青枯病的效果

从表 2 可以看出,生物有机肥 BOF 对番茄青枯病具有较好的防治效果。盆栽种植 30 d 和 50 d 时,BOF 处理青枯病发病率仅为 22.6% 和 26.2%,显著低于对照发病率 44.0% (30 d) 和 60.7% (50 d),防治效果分别达到 48.6% (30 d) 和 56.8% (50 d)。

比较不同时间各处理发病率可知,随着盆栽种植时间的延长,青枯病发病率均有所提高,移栽后 50 d OF 较移栽后 30d 显著提高了 16.7%,而 BOF 处理仅提高了 3.6% 且差异不显著,表明 BOF 具有比较稳定的防治青枯病的能力。

表 2 生物有机肥对番茄青枯病的防治效果

Table 2 Controlling effect of bioorganic fertilizer on bacterial wilt of tomato

处理 Treatments	发病率 Disease rate (%)	
	移栽后 30 天 30 d after transplanting	移栽后 50 天 50 d after transplanting
OF ¹⁾	44.0 ± 2.1a	60.7 ± 3.6a
BOF ²⁾	22.6 ± 2.1b	26.2 ± 2.1b

1) OF, 普通有机肥, common organic fertilizer; 2) BOF, 菌株 XZ-173 发酵制成的生物有机肥, bioorganic fertilizer fermented by strain XZ-173

2.4 生物有机肥对番茄植株生长的影响

通过设置化肥、有机肥处理与生物有机肥进行比较,评价具抗病功能的生物有机肥对番茄植株生长的影响,各处理植株生物量统计结果如表 3 所示。从表中可以看出,施用生物有机肥能够促进番茄的生长,效果要好于同等养分条件的化肥和有机肥处理,表明 BOF 对番茄植株具有很好的促生作用。番茄种植 30 d 时,地上部株高 BOF(施生物有机肥) > F(施化肥) > OF(施普通有机肥) > CK(不施肥),F 和 OF 间没有显著差异;地上部鲜重 BOF > F > OF > CK,但 BOF 和 F 差别不大;地下部鲜重 F > BOF > OF > CK。番茄种植 50 d 时,地上部株高、鲜重、地下部鲜重均为 BOF > F > OF > CK,各处理间差异明

显。施用化肥,在初期作物比较容易吸收,化肥种植效果要好于有机肥,略逊于生物有机肥,随着种植时间的推移,各处理间差异逐渐增大,生物有机肥显示出良好的促生能力。

番茄植株叶片叶绿素含量的测定结果见图 5。在不同时期,BOF、OF 叶绿素含量均高于化肥处理和对照,其中以 BOF 叶绿素含量最高;在前 30 d,F 和 OF 叶绿素含量并无显著差异,但在处理 50 d 后,两者差异明显,随着种植时间的延长,OF 与 F 相比显示出更好的增强植株光合作用的能力。添加生物有机肥 BOF 处理的番茄植株叶绿素含量显著高于化肥和普通有机肥处理,植物的生理活性得到提高,生长更加旺盛。

表 3 不同肥料处理对番茄植株生长的影响

Table 3 Growth promoting effects of various fertilizer treatments on tomato

处理 Treatments	株高 Plant height (cm)		地上部鲜重 Shoot fresh weight (g)		地下部根鲜重 Root fresh weight (g)	
	30 d	50 d	30 d	50 d	30 d	50 d
	CK	36.90 ± 3.11c	47.36 ± 3.00d	15.53 ± 0.63b	51.74 ± 7.99c	2.20 ± 0.16c
F	48.78 ± 0.83b	64.30 ± 3.64b	41.27 ± 3.65a	83.95 ± 4.53b	4.45 ± 0.71a	16.68 ± 2.61a
OF	46.38 ± 1.31b	59.46 ± 3.04c	35.64 ± 4.27a	75.23 ± 4.87b	3.37 ± 0.06b	15.49 ± 0.66a
BOF	52.48 ± 1.70a	70.52 ± 2.49a	42.13 ± 2.97a	94.96 ± 3.76a	4.11 ± 0.40a	17.21 ± 1.13a

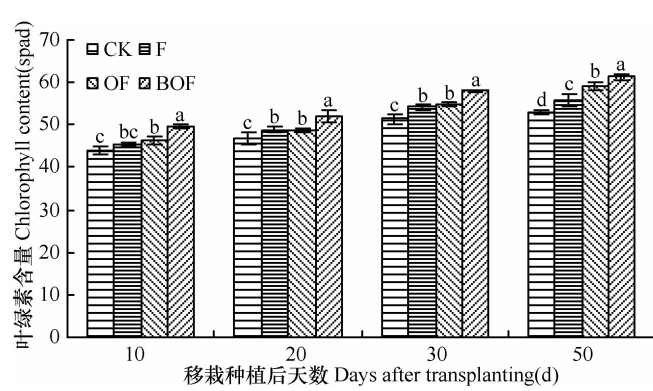


图 5 不同肥料处理番茄叶片叶绿素仪测定结果的动态变化

Fig. 5 Dynamic variation of SPAD results of tomato leaves treated with different fertilizers

2.5 生物有机肥对番茄根际土壤微生物区系的影响

从测定的番茄根际土壤微生物数量可以看出(表 4),BOF(施生物有机肥)细菌和放线菌数量较 CK(不施肥)、F(施化肥)、OF(施普通有机肥)均有显著增加,BOF 真菌数量较其他处理显著减少。BOF 根际细菌数量分别为 CK、F 和 OF 的 2.78 倍、1.68 倍和 1.45 倍,根际放线菌数量分别较 CK、F 和 OF 处理的 4.42 倍、1.43 倍和 2.12 倍,两者种群数量均显著高于 CK、F 和 OF;BOF 真菌数量明显低于其他处理,分别比 CK、F、OF 减少 47.62%、37.14%、63.33%。

表 4 不同肥料处理对番茄根际土壤微生物区系的影响

Table 4 Effects of different fertilizers on microflora in rhizospheric soil of tomato

处理 Treatments	细菌 Bacteria(× 10 ⁷ cfu g ⁻¹ soil)	真菌 Fungi(× 10 ⁴ cfu g ⁻¹ soil)	放线菌 Actinomyces(× 10 ⁵ cfu g ⁻¹ soil)
CK	2.3 ± 0.4c	4.2 ± 0.1b	1.2 ± 0.3d
F	3.8 ± 1.0bc	3.5 ± 0.2bc	3.7 ± 0.7b
OF	4.4 ± 0.7b	6.0 ± 1.0a	2.5 ± 0.5c
BOF	6.4 ± 0.4a	2.2 ± 0.5c	5.3 ± 0.5a

3 讨论

室内平板试验表明,菌株 XZ-173 对青枯菌具有显著的拮抗作用,其产生的脂肽类物质也显示出很强的抑菌活性。温室盆栽试验证实菌株 XZ-173 发酵的生物有机肥可以显著降低番茄青枯病的发病率,防治效果稳定。据肖相政等^[24]研究结果,本试验制得的生物有机肥对番茄青枯病的防病率(56.8%)要高于肖相政等报道的生物有机肥 FBOF2(27.6%)和 BOF(41.4%),可见菌株 XZ-173 发酵制成的生物有机肥具有一定的生防优势。本文首次将大量产脂肽类抗生素的细菌与有机肥混

合发酵制成生物有机肥,为利用功能微生物和农业固体有机废弃物生产生物有机肥以防治作物土传病害提供了理论依据。

本研究通过盆栽试验证明,土壤中施用功能性生物有机肥能够促进番茄生长,显著提高作物地上部株高和地上部鲜重。在植株生理活性方面,生物有机肥处理的番茄植株叶绿素含量在不同时期均高于化肥和有机肥处理,且随着时间的延长与两者的差异逐渐加大。这可能是由于功能菌与有机肥发酵后能够增强原有机肥养分活性,使得肥料中的养分更容易被作物吸收,作物的生物量和活性得到增加。此外,功能菌 XZ-173 属植物根际促生细菌(PGPR),许多报道表明^[25-27],PGPR 可通过在作物

根际定殖产生 IAA 等促进植物生长发育,或是产生抗生素、铁载体、诱导 ISR 等抑制土壤病原菌感染来保护植物的生长。对于菌株 XZ-173 及其发酵制得肥料的拮抗及促生机理需要进一步开展研究。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,施用一般有机肥可以改良土壤微生物区系和提高土壤微生物活性^[28]。生物有机肥在有机肥的基础上,增加了功能微生物的数量,可以调节土壤微生物生态平衡^[29],促进植物营养吸收,增强作物对土传病害的抵抗力^[30]。本实验结果证实,施用生物有机肥能够改变土壤微生物区系组成,使土壤中细菌和放线菌的数量显著增加,真菌的数量显著减少。生物有机肥的应用通常能使土壤微生物区系向健康的方向发展^[31],但生物有机肥对土壤中有益与有害微生物种群的效应以及作物养分运输循环的影响尚需更深入的研究。利用青枯菌拮抗菌与有机肥混合发酵制成的生物有机肥,具有良好的防治青枯病,促进作物生长和改良土壤微生物组成的能力,显示出作为新型生产资料的巨大潜力。

参 考 文 献

- [1] Lemessa F, Zeller W. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia. *Biological Control*, 2007, 42: 336—344
- [2] Dahal D, Heintz D, Dorsselaer A V, et al. Pathogenesis and stress related, as well as metabolic proteins are regulated in tomato stems infected with *Ralstonia solanacearum*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47: 838—846
- [3] Denny T P. Plantpathogenic *Ralstonia* species//Gnanamanickam S S. Plant-associated bacteria. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2006: 573—644
- [4] Nakaho K, Inoue T, Miyagawa H. Distribution and multiplication of *Ralstonia solanacearum* in tomato plants with resistance derived from different origins. *Journal of General Plant Pathology*, 2004, 70: 115—119
- [5] Ram-Kishun S, Kishun R. Loss in yield of tomato due to bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Indian Phytopathology*, 1987, 40: 152—155
- [6] 李丽萍, 谢响明, 宋洪英, 等. 紫茎泽兰提取物对番茄青枯病的抑菌作用及其机理. *生物技术通报*, 2010, 7: 146—152. Li L P, Xie X M, Song H Y, et al. Inhibition effect and mechanism of *Eupatorium adenophorum* Spreng extract against *Ralstonia solanacearum* (In Chinese). *Biotechnology Bulletin*, 2010, 7: 146—152
- [7] 连玲丽, 谢荔岩, 许曼琳, 等. 芽孢杆菌对青枯病菌-根结线虫复合侵染病害的生物防治. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2007, 33(2): 190—196. Lian L L, Xie L Y, Xu M L, et al. Biological control of bacterial wilt-root knot disease complex by *Bacillus* sp. (In Chinese). *Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Science Edition*, 2007, 33(2): 190—196
- [8] Hayward A C, Hartman G L. Bacterial wilt: The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford UK: CAB International, 1994
- [9] Schell M A. To be or not to be: How *Pseudomonas solanacearum* decides whether or not to express virulence genes. *European Journal of Plant Pathology*, 1996, 102: 459—469
- [10] Aliye N, Fininsa C, Hiskias Y. Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberosum*) against bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Biological Control*, 2008, 47: 282—288
- [11] Ran L X, Liu C Y, Wu G J, et al. Suppression of bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. in China. *Biological Control*, 2005, 32: 111—120
- [12] Toyota K, Kimura M. Suppression of *Ralstonia solanacearum* in soil following colonization by other strains of *R. solanacearum*. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2000, 46: 449—459
- [13] 朱红惠, 姚青, 李浩华, 等. AM 真菌对青枯菌的抑制和对酚类物质的影响. *微生物学通报*, 2004, 31(1): 1—5. Zhu H H, Yao Q, Li H H, et al. Inhibition of *Ralstonia solanacearum* by AM fungus *Glomus versiforme* and their effect on phenols in root (In Chinese). *Microbiology China*, 2004, 31(1): 1—5
- [14] 郭坚华, 孙平华, 吴云波, 等. 植物青枯病的生防机理和方法. *中国生物防治*, 1997, 13(1): 42—46. Guo J H, Sun P H, Wu Y B, et al. Mechanisms and methods biocontrol of plant bacterial wilt disease (In Chinese). *Chinese Journal of Biological Control*, 1997, 13(1): 42—46
- [15] 耿瑞霖, 郁红艳, 丁维新, 等. 有机无机肥长期施用对潮土团聚体及其有机碳含量的影响. *土壤*, 2010, 42(6): 908—914. Geng R L, Yu H Y, Ding W X, et al. Effects of long-term application of organic manure and chemical fertilizers on organic carbon in aggregates of a sandy loam (In Chinese). *Soils*, 2010, 42(6): 908—914
- [16] Li B Y, Huang S M, Wei M B, et al. Dynamics of soil and grain micronutrients as affected by long-term fertilization in an aquic inceptisol. *Pedosphere*, 2010, 20(6): 725—735
- [17] Celine J, Francois V, Claude A, et al. Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39: 1—23
- [18] 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. *土壤学报*, 2008, 45(5): 925—932. Yang X M, Xu Y C, Huang Q W, et al. Organic-like fertilizers and its relation to sustainable development of agriculture and protection of eco-environment (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(5): 925—932
- [19] Etchegaray A, Carolina C B, Itamar S M, et al. Effect of a highly concentrated lipopeptide extract of *Bacillus subtilis* on fungal and bacterial cells. *Archives of Microbiology*, 2008, 190: 611—622
- [20] 朱震, 陈芳, 肖同建, 等. 拮抗菌生物有机肥对番茄根结线虫的防治作用. *应用生态学报*, 2011, 22(4): 1 033—1 038. Zhu Z, Chen F, Xiao T J, et al. Controlling effect of antagonist

- bioorganic fertilizer on tomato root-knot nematode (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(4): 1 033—1 038
- [21] 方中达. 植病研究方法. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1998. Fang Z D. Methods of plant pathology research (In Chinese). 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 1998
- [22] Mukherjee S, Das P, Sen R. Rapid quantification of a microbial surfactant by a simple turbidometric method. Journal of Microbiological Methods, 2009, 76:38—42
- [23] 吕应年, 杨世忠, 牟伯中, 等. 脂肽的分离纯化与结构研究. 微生物学通报, 2005, 32(1): 67—73. Lv Y N, Yang S Z, Mu B Z, et al. Isolation and identification of lipopeptide (In Chinese). Microbiology China, 2005, 32(1): 67—73
- [24] 肖相政, 刘可星, 廖宗文. 生物有机肥对番茄青枯病的防效研究及机理初探. 农业环境科学学报, 2009, 28(11): 2 368—2 373. Xiao X Z, Liu K X, Liao Z W. Disease-control effect and mechanism research of biological organic fertilizer on tomato bacterial wilt (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28(11): 2 368—2 373
- [25] Choudhary D K, Johri B N. Interaction of *Bacillus* spp. and plants—With special reference to induced systemic resistance (ISR). Microbiological Research, 2009, 164: 493—513
- [26] 胡江春, 薛德林, 马城新, 等. 植物根际促生菌(PGPR)的研究与应用前景. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1 963—1 966. Hu J C, Xue D L, Ma C X, et al. Research advances in plant growth-promoting rhizobacterial and its application prospects (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(10): 1 963—1 966
- [27] Schisler D A, Slininger P J, Behle R W, et al. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. Phytopathology, 2004, 94: 1 267—1 271
- [28] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 等. 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. Cai Y F, Liao Z W, Zhang J E, et al. Effect of ecological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial diversities (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(3): 349—353
- [29] Wei D, Yang Q, Zhang J Z, et al. Bacterial community structure and diversity in a black soil as affected by long-term fertilization. Pedosphere, 2008, 18(5): 582—592
- [30] 张丽萍, 黄亚丽, 程辉彩, 等. 土壤微生物制剂防治草莓连作病害的研究. 土壤, 2007, 39(4): 604—607. Zhang L P, Huang Y L, Cheng H C, et al. Disease control with bio-preparation in continuous cropping of strawberry (In Chinese). Soils, 2007, 39(4): 604—607
- [31] 江欢欢, 程凯, 杨兴明, 等. 辣椒青枯病拮抗菌的筛选及其生物防治效应. 土壤学报, 2010, 47(6): 1 225—1 231. Jiang H H, Cheng K, Yang X M, et al. Isolation and biological effect of capsicum wilt antagonist (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(6): 1 225—1 231

BIO-CONTROL AND GROWTH-PROMOTING EFFECTS OF BIO-MANURE FERMENTED BY LIPOPEPTIDE-PRODUCING BACTERIA

Zhu Zhen Zhang Guoyi Xu Yangchun Yang Xingming Ran Wei[†] Shen Qirong

(College of Resources and Environmental Sciences, Jiangsu Key Lab for Soild Organic Waste Utilization, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract A greenhouse pot experiment was carried out to study effects of a kind of bioorganic fertilizer (BOF) prepared out of fermentation of organic manure using as a starter strain XZ-173 lipopeptide-producing bacteria that are obviously effective in inhibiting the pathogen causing tomato bacterial wilt (TBW). Results show that the BOF effectively reduced the incidence of TBW with a relative control efficiency being 56.8%. Compared with treatments using chemical fertilizers or organic manure without using XZ-173 as starter, Treatment BOF significantly increased chlorophyll content of tomato leaves, biomasses of roots and shoots, and counts of bacteria and actinomycetes in rhizosphere soil, but reduced population of rhizospheric fungi. These beneficial effects of the BOF give it a broad prospect for application in cropping.

Key words Bacterial wilt; Lipopeptide; Bioorganic fertilizer; Tomato; Biological control; Growth promotion