

新疆棉区不同含盐土壤棉花健株与黄萎病株 根区放线菌研究

白 霜^{1a}, 薛泉宏^{1b}, 赵邑尘^{1a}, 曹书苗^{1b}, 同延安^{1b}, 王晓辉^{1a}, 徐万里²

(1 西北农林科技大学 a 生命科学学院, b 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2 新疆农科院土壤肥料研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091)

【摘 要】 【目的】了解新疆棉区不同含盐量棉田健株与黄萎病病株根区土壤放线菌生态差异,并从中分离筛选对棉花黄萎、枯萎病有较好防效的生防放线菌,为棉花黄、枯萎病的生态防治提供依据。【方法】采用稀释平板法,对新疆棉区 3 组不同含盐量土样进行放线菌分离测数,采用皿内琼脂块法筛选拮抗放线菌。【结果】①在不同含盐量土壤中,棉花病株根区土壤有机质和可溶性总盐含量均高于健株,在高盐、中盐及低盐土壤中,棉花病株根区土壤有机质和可溶性总盐含量分别较健株高出 5.7%,7.8%,20.1%和 20.2%,15.0%,195.0%。土壤可溶性总盐含量愈低,病株与健株根区土壤有机质含量差异愈大,棉花病株与健株根区土壤 pH 无明显差异。②棉花病株根区土壤中放线菌总数均大于健株,在高盐、中盐及低盐棉田中,病株根区土壤放线菌总数较健株分别提高 15.5%,59.4%及 90.3%;在中盐土壤病株根区土壤中,链霉菌属、小单孢菌属及伴生细菌数量分别较健株高出 38.5%,23.8%,295.7%,在低盐土壤中分别高出 106%,35.7%及 16.0%,高盐土壤中链霉菌属及伴生细菌数量与之相反。③从新疆棉田供试土壤中分离的 81 株放线菌中,有 51 株放线菌对靶标病原菌有拮抗性,占供试放线菌总数的 62.9%,其中对棉花黄萎、枯萎及立枯病菌有拮抗性的菌株分别占供试放线菌总数的 41.9%,51.9%及 18.5%。④在高盐和中盐土壤中,从健株根区土壤分离筛选到的拮抗菌中,对棉花黄萎病有抗性的拮抗性放线菌比率略高于病株根区土,但低盐土壤表现为病株根区(63.6%)>健株根区(36.4%)。⑤从棉花根区土壤中分离得到的放线菌中,对棉花黄萎病菌、枯萎病菌及立枯病菌有较强抗性的菌株分别占菌株总数的 7.4%,9.8%及 3.7%,无抗性的分别占 55.5%,41.9%及 82.7%。【结论】棉花黄萎病病害发生与棉花根区土壤有机质含量、可溶性总盐含量、土壤放线菌组成及拮抗性放线菌比例有一定关系。

【关键词】 棉花黄萎病;土壤微生物;放线菌;微生物生态;拮抗放线菌

【中图分类号】 S562;S154.38⁺3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)07-0183-08

Study on actinomycetic ecology between heathy and diseased plants' rhizosphere with different salt contents in Xinjiang

BAI Shuang^{1a}, XUE Quan-hong^{1b}, ZHAO Yi-chen^{1a}, CAO Shu-miao^{1b}, TONG Yan-an^{1b},
WANG Xiao-hui^{1a}, XU Wan-li²

(1 a College of Life Sciences, b College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Institute of Soil and Fertilizer, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang 830091, China)

Abstract: 【Objective】 The study was to find out the difference between healthy and diseased plants' root-zone in Xinjiang cotton soil with different salinity, and screen antagonistic actinomycetes against cotton *Verticillium* wilt and *Fusarium* wilt from the soil, in order to offer a foundation for biocontrol against cotton *Verticillium* wilt and *Fusarium* wilt. 【Method】 The quantity of actinomycetes was determined via

* [收稿日期] 2008-11-06

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD05B07);国家自然科学基金重点项目(30630054)

[作者简介] 白 霜(1984—),女,陕西西安人,在读硕士,主要从事微生物资源研究。E-mail: baishuang840527@163.com

[通信作者] 薛泉宏(1957—),男,陕西白水人,教授,博士生导师,主要从事微生物资源利用研究。

E-mail: xueqhong@public.xa.sn.cn

dilution and plating. Agar piece method was used to screen the antimicrobial actinomycetes and measure the inhibition. 【Result】 ① The study shows that, the organic matter content and soluble total salinity of diseased plants' root-zone are higher than those of healthy plants in all 3 kinds of tested soils. Compared to its healthy plants' root-zone, the content of organic matter and soluble total salinity in diseased plants' root-zone is 5.7%, 7.8%, 20.1% and 20.2%, 15.0%, 195.0% higher than those of healthy plants in high, mid-dling and low salinity soil respectively. The lower the salinity is, the larger difference of organic matter between the diseased and healthy plants. ② The total actinomycetes number of diseased cotton plants' root-zone is 15.5%, 59.4%, 90.3% higher than that of healthy plants' in high, mediate and low salinity soil respectively. The quantities' characteristic of *Streptomyce*, *Micromonospra* and companion bacteria is all in line with the above in mediate and low salinity soil, while in high salinity soil, it's the contrary. The *Streptomyce*, *Micromonospra* and companion bacteria's amount of diseased plants' root-zone is 38.5%, 106%; 23.8%, 35.7%; 295.7%, 16.0% higher than that of the healthy plants in mediate and low salinity soil respectively. ③ Among 81 strains selected from tested soil of Xinjiang, 51 strains have antagonistic action to those target pathogenic Fungi, being 62.9% of isolated actinomycetes. And 41.9%, 51.9% and 18.5% of strains exhibit antagonistic action to cotton *Verticillium* wilt, *Fusarium* wilt and *Rhizoctonia solani* respectively. ④ In high and mediate salinity soil, the antagonistic actinomycetes screened from the healthy plants' root-zone, have higher rate of antagonistic action than the diseased ones, while in low salinity soil, it shows the contrary. ⑤ Among the actinomycetes isolated from cotton rhizosphere, 7.4%, 9.8%, 3.7% have strong antagonistic action against cotton *Verticillium* wilt, *Fusarium* wilt and *Rhizoctonia solani* respectively, while 55.5%, 41.9%, 82.7% have no any antagonistic action against cotton *Verticillium* wilt, *Fusarium* wilt and *Rhizoctonia solani*. 【Conclusion】 The pathogenesis of *Verticillium* wilt, the quantities, ratio and compose of actinomycetes of cotton plants' root-zone are correlated with the contents of soil organic matter and salinity.

Key words: cotton *Verticillium* wilt; soil microorganism; actinomycetes; microbial ecology; antagonistic actinomycete.

棉花是重要的纺织和国防工业原料。新疆是我国最大的优质棉生产基地,棉花种植历史悠久,面积和产量约占全国总量的 40% 左右。随着棉花种植年限的增加,连作障碍日益严重,其中棉花黄萎病造成的损失很大,已成为制约新疆棉花产业发展的主要因素^[1-3]。棉花黄萎病是由大丽轮枝菌(*cotton Verticillium dahliae* Kleb)引起的一种真菌性病害,主要侵染棉株维管束系统,引起棉花大幅度减产。国内外已在棉花抗黄萎病育种、农业措施及化学防治方面做了大量研究,并取得了一定成果,但仍然未从根本上解决该病的防治问题^[4-5],因此寻求新的防治途径是棉花生产中亟待解决的问题。鉴于棉花黄萎病是由病原真菌引起的病害,故用拮抗性微生物防治该病是值得探索的途径。近年来,国内外已经从细菌、真菌中筛选出一些对棉花黄萎病有防效的拮抗性微生物^[6-9],但从棉田根区微生态角度研究黄萎病的发病机制及从放线菌中筛选生防菌的研究很少。由于黄萎病的病原菌生存于棉田土壤中,

其侵染从棉花根系开始,且根区土壤微生态对发病影响很大,加之放线菌是抗生素的主要产生菌,具有良好的生防效果^[10-18]。因此,研究棉花健、病株根区土壤性质及放线菌生态差异,从棉花根区土壤中分离筛选拮抗放线菌,对揭示棉花黄萎病发生的土壤微生态机制,研制用于棉株根区土壤微生态改良的放线菌制剂,从源头上控制黄萎病原菌侵入棉株均有重要意义。本研究对新疆棉区不同含盐土壤棉花健病株根区土壤放线菌生态、土壤有机质及可溶性总盐含量进行了初步分析,以期为棉花黄枯萎病发生机制和生态防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤样品 土壤样品采自新疆建设兵团第一师垦区棉田土壤,土壤类型为灰漠土。其中高盐土(High-salinity soil,简称 HSS)、中盐土(Mid-dling-salinity soil,简称 MSS)和低盐土(Low-salini-

ty soil, 简称 LSS)分别采自 142 团 25 连、147 团 14 连及 146 团 7 连。

1.1.2 供试靶标菌 靶标病原菌为棉花黄萎病菌 (cotton *Verticillium dahliae* Kleb)、棉花枯萎病菌 (cotton *Fusarium oxysporum*) 和棉花立枯病菌 (cotton *Rhizoctonia solani*),均由西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室提供。

1.1.3 培养基 高氏 1 号和腐殖酸琼脂培养基^[19]:用于放线菌分离测数,各加入重铬酸钾至 80 $\mu\text{g/mL}$,抑制杂菌生长;PDA 培养基^[19]:用于病原菌培养和拮抗性测定。

1.2 方 法

1.2.1 土样采集 采样植株选择:在采样点选择典型的棉花黄萎病株 3 株,并在临近黄萎病株处选择与病株生长高度基本一致的健康株 3 株作为对照。

棉花根区土壤的采集:将所选棉花健株、病株根系所在耕层整体挖出,用采样刀去掉离根较远、受根系影响较小的土壤,将与根系紧密结合、受根系影响较大的土壤(即棉花根区土)约 200 g 连同棉花根系一同装入新购自封袋中,轻轻揉搓,使附着在根系上的土壤落入袋中,即分别得到健株根区土 (Healthy plants' Rhizosphere soil,简称 HRS)和病株根区土 (Diseased plants' Rhizosphere soil,简称 DRS);将所采土壤样品带回实验室,打开袋口,用吸水纸覆盖,自然风干磨碎备用。

1.2.2 土样基本性质测定 pH 测定用 Beckman 90 型 pH 计,可溶性总盐含量测定采用残渣烘干法,土壤有机质含量测定采用重铬酸钾容量法^[20]。

1.2.3 土样放线菌的分离、计数 称取 1.2.1 制备

的土样 10.0 g 于 90 mL 无菌水中,充分振荡后采用稀释平板涂抹法分离测数^[19]。培养基选用高氏 1 号和腐殖酸琼脂培养基(倒皿之前均要加入灭菌的重铬酸钾至 80 $\mu\text{g/mL}$)。28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d,选择稀释度合适的培养皿进行放线菌总数、链霉菌、小单孢菌及伴生细菌计数,并从中挑取形态不同的放线菌单菌落于高氏 1 号斜面管,经高氏 1 号平皿划线纯化后,再接入高氏斜面管保存备用。

1.2.4 靶标病原菌的培养 将 3 种供试靶标菌接种于 PDA 斜面管中,置 28 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 3~4 d,取出用无菌水制成菌悬液备用。

1.2.5 放线菌琼脂块的制备 用灭菌竹签按无菌操作法,从已纯化保存的斜面管中接取少量 1.2.3 中得到的放线菌,均匀涂布于高氏 1 号培养基平板上,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 后取出,用直径 7 mm 的无菌打孔器打成菌饼备用。

1.2.6 拮抗性放线菌的筛选 用移液管吸取靶标病原菌菌悬液 1 滴于 PDA 培养皿,涂布均匀,再将制备好的 7 mm 放线菌菌饼用灭菌竹签移植到平皿上,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d,观察并测定拮抗圈的大小。

2 结果与分析

2.1 棉花黄萎病病株和健株根区土壤的化学性质

(1)有机质。由表 1 可以看出,棉花病株与健株根区土壤有机质含量存在一定差异,病株根区土壤有机质含量均高于健株。在高盐、中盐及低盐棉田土壤中,病株根区土壤有机质含量较健株分别高出 5.7%,7.8%及 20.1%,土壤可溶性总盐含量愈少,病株与健株根区土壤有机质含量的差异愈大。

表 1 棉花黄萎病病株与健株根区土壤有机质、可溶性总盐含量及 pH 值

Table 1 Organic matter,soluble total salinity and pH in soil of healthy and diseased plants' rhizosphere							
采样棉田 Collecting spot cotton field	土壤样品 Soil sample	pH	有机质 Organic matter		可溶性总盐 Soluble total salinity		
			含量/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Content	$\Delta/\%$	含量/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Content	$\Delta/\%$	
高盐 High-salinity	健株 HRS	8.44	17.22	—	2.47	—	
	病株 DRS	8.34	18.21	5.7	2.97	20.2	
中盐 Middling-sa- linity	健株 HRS	8.63	13.12	—	1.20	—	
	病株 DRS	8.61	14.14	7.8	1.38	15.0	
低盐 Low-salinity	健株 HRS	8.32	15.58	—	0.20	—	
	病株 DRS	8.45	18.72	20.1	0.59	195.0	

注: $\Delta/\%$ =(病株根区土-健株根区土)/健株根区土 $\times 100\%$ 。下表同。
Note: $\Delta/\%$ =(Healthy plants' rhizosphere soil-Diseased plants' rhizosphere soil)/ Healthy plants' rhizosphere soil $\times 100\%$. The following table is the same.

在新疆棉田土壤管理上实行棉秆还田。棉花秸秆还田后在土壤中分布不均匀,局部土壤中棉秆较多,而棉秆上可能存在黄萎病病原菌,因此还田棉秆较多的局部土壤中腐解残留物也较多,有机质含量较高,使残留及第 2 年繁殖的黄萎病病原菌数量较多,导致发病率较高。此结论有待进一步研究证实。

(2)可溶性总盐含量。从表 1 可知,棉花病株与健株根区土壤可溶性总盐含量差异较大。在低盐土壤中,病株根区土壤可溶性总盐含量较健株高 195.0%,高盐与中盐土壤病株较健株分别高出 20.2%与 15.0%,说明棉田局部土壤可溶性总盐含量较高可能是引起棉花黄萎病发生的环境因素之一。

(3)pH 值。由表 1 还可以看出,棉花病株与健株根区土壤 pH 值无明显差异。病株与健株根区土壤 pH 值分别为 8.34~8.61 与 8.32~8.63,即在供试棉田土壤中,土壤 pH 值与黄萎病的发生无明显关系。

2.2 棉花黄萎病病株和健株根区土壤放线菌区系

2.2.1 高氏 1 号培养基的分离培养结果 高氏 1 号培养基上分离到的土壤放线菌,主要是能以淀粉

为碳源和能源生长的放线菌属,其数量和种类较多。

(1)放线菌总数。从表 2 可以看出,在 3 种不同含盐棉田土壤中,放线菌总数均表现为病株根区土壤高于健株根区,其中高、中及低盐土壤棉花病株根区土放线菌总量较健株分别高出 15.5%,59.4%及 90.3%,即随含盐量的降低,病株根区土放线菌总量与健株的差异呈扩大趋势。在健株和病株根区土壤中,不同含盐土壤放线菌数量表现为低盐棉田土>中盐棉田土>高盐棉田土,即棉花根区土壤放线菌总量随土壤含盐量的增高而减少。

(2)链霉菌属。链霉菌属是土壤放线菌中数量和种类最多的属。由表 2 可以看出,在中、低盐土壤中,病株根区土壤中链霉菌数量较健株分别高出 38.5%和 106%;而在高盐土壤中,病株根区土壤中链霉菌数量较健株低 45.9%。在病株根区土壤中,不同盐分土壤链霉菌数量表现为低盐棉田土>中盐棉田土>高盐棉田土,健株根区土壤链霉菌数量也表现为类似趋势:低盐棉田土≈中盐棉田土>高盐棉田土,即棉花根区土壤链霉菌数量随土壤含盐量的增高而减少。

表 2 高氏 1 号培养基上的放线菌数量及组成

Table 2 Composition and quantity of microorgnisms in Gao 1 agar medium

采样棉田 Collecting spot cotton field	土壤 样品 Soil sample	放线菌 Total number of actinomyces		链霉菌属 <i>Streptomyce</i>		小单孢菌属 <i>Micromonospra</i>		其他放线菌属 Other actinomyces		伴生细菌 Companion bacteria	
		数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%
		Quantity		Quantity		Quantity		Quantity		Quantity	
高盐 High- salinity	健株 HRS	3.22±0.03	—	0.61±0.06	—	1.84±0.12	—	0.77±0.22	—	8.18±0.14	—
	病株 DRS	3.72±0.57	15.5	0.33±0.25	—45.9	3.07±0.07	66.8	0.32±0.01	—58.4	1.10±0.04	—86.5
中盐 Middling- salinity	健株 HRS	3.92±0.03	—	2.34±0.06	—	1.51±0.03	—	0.07±0.01	—	1.18±0.09	—
	病株 DRS	6.25±0.02	59.4	3.24±0.01	38.5	1.87±0.06	23.8	1.14±0.12	1528.0	4.67±0.02	295.7
低盐 Low- salinity	健株 HRS	5.03±0.08	—	2.23±0.27	—	2.07±0.25	—	0.73±0.11	—	4.18±0.50	—
	病株 DRS	9.57±0.11	90.3	4.60±0.09	106	2.81±0.06	35.7	2.16±0.21	195.8	4.85±0.02	16.0
Σ	健株 HRS	12.17±0.14	—	5.18±0.39	—	5.42±0.40	—	1.57±0.24	—	13.5±0.73	—
	病株 DRS	19.54±0.70	60.5	8.17±0.35	57.7	7.75±0.19	42.9	3.62±0.31	130.6	10.6±0.04	—21.6

(3)小单孢菌属。小单孢菌属是土壤放线菌中数量仅次于链霉菌属的第 2 大属。从表 2 可以看出,在不同盐分的土壤中,小单孢菌的数量均表现为病株根区土大于健株根区土,其中高盐棉田病株根区土中小单孢菌数量较健株高 66.8%,中盐和低盐土壤中分别高 23.8%和 35.7%。

此外,在高盐土壤放线菌组成中,小单孢菌属在数量上占优势。如高盐病株、健株根区土中,小单孢

菌数量分别占放线菌总量的 82.5%和 57.1%,该属菌在病株根区土放线菌中所占比例较健株高 25.4%,说明可溶性总盐含量较高的土壤中,病株根区土壤中小单孢菌比例大幅度增高。

(4)其他放线菌属。其他放线菌属是指菌落形态上属于放线菌,但又不具明显的链霉菌属或小单孢菌属特征的一类放线菌。由表 2 可以看出,在不同可溶性总盐含量的棉田土壤中,除高盐土壤外,

中、低盐土壤中病株根区土中其他放线菌数量较健株分别高 1 528%和 195.8%。

(5)伴生细菌。伴生细菌是指分离放线菌时,在高氏 1 号培养基上同时生长的能以淀粉为碳源和能源、不需要生长因子,且对重铬酸钾有一定耐受性的细菌类群。由表 2 可以看出,伴生细菌的数量特征与链霉菌属基本一致,即 3 组土样中除高盐土样外,在其他 2 种土样病株根区土壤中,伴生细菌的数量分别较健株高 295.7%,16.0%。

综上所述可知,在中、低盐土壤中,链霉菌、小单孢菌及高氏 1 号培养基上生长的特定伴生细菌数量均表现为病株根区土壤大于健株,高盐土壤中的链霉菌、其他放线菌属及特定伴生细菌均呈相反趋势。

2.2.2 腐殖酸琼脂培养基的分离培养结果 腐殖酸琼脂培养基为链霉菌的选择性培养基^[21],该培养基上分离到的放线菌主要是能以腐殖酸为碳源和能源生长的放线菌属,种类较单一,主要为链霉菌属,小单孢菌属及其他放线菌属不存在或极少。

表 3 腐殖酸琼脂培养基上的放线菌数量及组成

Table 3 Composition and quantity of microorgnisms in HA agar medium											
采样 棉田 Collecting spot cotton field	土壤 样品 Soil sample	放线菌 Total number of actinomyces		链霉菌属 <i>Streptomyce</i>		小单孢菌属 <i>Micromonospra</i>		其他放线菌属 Other actinomyces		伴生细菌 Companion bacteria	
		数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%	数量/ (10 ⁵ g ⁻¹)	Δ/%
		Quantity		Quantity		Quantity		Quantity		Quantity	
高盐 High-sa- linity	健株 HRS	5.15±0.02	—	4.66±0.02	—	0	—	0.49±0.11	—	18.24±0.05	—
	病株 DRS	4.49±0.05	—12.8	2.98±0.04	—36.1	0	0	1.51±0.03	208.1	4.74±0.25	—95.9
中盐 Middling- salinity	健株 HRS	4.88±0.06	—	4.34±0.03	—	0	—	0.54±0.13	—	3.29±0.45	—
	病株 DRS	10.92±0.41	123.7	9.50±0.36	118.8	0	0	1.42±0.05	162.9	4.50±0.01	36.8
低盐 Low-salin- ity	健株 HRS	4.55±0.55	—	4.18±0.50	—	0.8	—	0.37±0.12	—	12.43±1.22	—
	病株 DRS	7.99±0.07	75.6	7.90±0.23	88.9	0	0	0.09±0.01	—75.7	16.21±0.05	30.4
Σ	健株 HRS	14.58±0.63	—	13.18±0.55	—	0	—	1.40±0.22	—	33.96±1.72	—
	病株 DRS	23.40±0.53	60.5	20.38±0.63	54.6	0	0	3.02±0.26	115.7	25.45±0.31	—25.1

2.3 棉花黄萎病病株和健株根区土壤中拮抗性放线菌的生态分布

从新疆棉田供试土壤中共分离到 81 株菌落形态不同的放线菌(表 4),通过拮抗性筛选发现,有 51 株放线菌对靶标病原菌有拮抗性,占供试放线菌总数的 62.9%,其中对棉花黄萎病菌和棉花枯萎病菌有拮抗性的菌株分别占供试放线菌总数的 41.9%和 51.9%,对棉花立枯病菌有拮抗性的放线菌占供试放线菌总数的 18.5%。

(1)放线菌总数及链霉菌属。由表 3 可以看出,除高盐土壤中病株根区土放线菌总量低于健株外,在中盐和低盐土壤中,病株根区土放线菌总量及链霉菌属数量分别较健株根区土高 123.7%,75.6%及 118.8%,88.9%。由于腐殖酸琼脂培养基是链霉菌属的选择性培养基,分离到的放线菌主要为链霉菌属,因此链霉菌属的数量特征与放线菌总数一致。

(2)其他放线菌属。由表 3 可以看出,腐殖酸琼脂培养基上分离的其他放线菌属数量特征与高氏 1 号不同,低盐土壤病株根区土中其他放线菌属较健株低 75.7%,而高盐和中盐土壤中病株根区土较健株高出 208.1%和 162.9%。

(3)伴生细菌。由表 2,3 可以看出,腐殖酸琼脂培养基与高氏 1 号培养基上伴生细菌的数量分离结果一致,即 3 组土样中除高盐土样外,中盐和低盐病株根区土壤中伴生细菌的数量分别较健株高 36.8%和 30.4%。

从表 4 可以看出,在高盐和中盐土壤中,从健株根区土壤分离筛选的拮抗菌中,对棉花黄萎病菌有抗性的拮抗性放线菌比率略高于病株根区土,但低盐土壤表现为病株根区(63.6%)>健株根区(36.4%)。在高盐、低盐土壤中,从病株根区土壤分离所得放线菌中,抗棉花枯萎病菌的拮抗放线菌比率高于健株根区土,中盐棉田与之相反。棉花病株、健株根区土壤中拮抗棉花立枯病菌的拮抗放线菌比率与棉花枯萎病菌相同,即高盐、低盐棉田土壤表现

为病株根区>健株根区,中盐棉田与之相反。

表 4 棉花黄萎病病株和健株根区土壤拮抗性放线菌的生态分布

Table 4 Ecological distribution of antimicrobial actinomycetes

采样棉田 Collecting spot cotton field	土壤 样品 Soil sample	菌株总数 /株 Number of actinomy cetes's	靶标菌 Test organisms						拮抗菌 总株数 Number of antimicrobe	
			棉花黄萎病菌 Cotton <i>Verticillium</i> wilt		棉花枯萎病菌 Cotton <i>Fusarium</i> wilt		棉花立枯病菌 <i>Rhizoctonia</i> <i>solani</i>			
			株数 Strain	P/%	株数 Strain	P/%	株数 Strain	P/%	株数 Strain	P/%
高盐 High-sa- linity	健株 HRS	22	11	50.0	12	54.5	5	22.7	15	68.2
	病株 DRS	16	7	43.7	10	62.5	5	31.3	13	81.2
中盐 Middling -salinity	健株 HRS	10	3	30.0	5	50.0	1	10.0	8	80.0
	病株 DRS	11	3	27.3	3	27.3	0	0	5	45.5
低盐 Low-sa- linity	健株 HRS	11	4	36.4	4	36.4	1	9.1	6	54.5
	病株 DRS	11	7	63.6	7	63.6	3	27.3	7	63.6
Σ	健株 HRS	43	18	41.8	21	48.8	7	16.3	29	67.4
	病株 DRS	38	17	44.7	20	52.6	8	21.1	25	65.8
	总数 Total number	81	34	41.9	42	51.9	15	18.5	51	62.9

注:P 指某种菌株占菌株总数的比例。下表同。

Note:P means ‘the ratio of the certain strain to the total strain number’. The following table is the same.

2.4 棉花黄萎病病株和健株根区土壤放线菌的拮抗性

由表 5 可见,从棉花根区土壤中分离所得 81 株放线菌中,对 3 种靶标菌有较强拮抗作用的放线菌所占比例较小,如抗棉花黄萎病菌、棉花枯萎病菌及棉花立枯病菌的拮抗性放线菌分别只有 7.4%,

9.8%及 3.7%;中等抗性的放线菌所占比例较高,分别为 25.9%,39.5%和 13.5%;无抗性的放线菌分别为 55.5%,41.9%及 82.7%。说明从棉花根区土壤中分离得到的放线菌中,约有 50%对棉花黄萎病、枯萎病病原菌有程度不同的拮抗性,仅有约 15%的放线菌对棉花立枯病菌有抗性。

表 5 81 株拮抗放线菌对 3 种靶标病原菌的拮抗强度

Table 5 Antagonistic intensity of 81 actinomycetes to 3 pathogeny

抑菌强度 Intensity of antimicrobial actions	棉花黄萎病拮抗菌 Antimicrobial actinomycet to cotton <i>Verticillium</i> wilt		棉花枯萎病拮抗菌 Antimicrobial actinomycet to cotton <i>Fusarium</i> wilt		棉花立枯病菌拮抗菌 Antimicrobial actinomycet to <i>Rhizoctonia solani</i>	
	株数 Strain	P/%	株数 Strain	P/%	株数 Strain	P/%
强 Strong	6	7.41	8	9.88	3	3.70
中 Middle	21	25.93	32	39.51	11	13.58
弱 Weak	9	11.11	7	8.64	0	0
无抗性 None resistance	45	55.55	34	41.97	67	82.72

注:强. 抑菌圈平均直径 $d\geq 20$ mm;中. $20\text{ mm}>d\geq 15$ mm;弱. $0<d<15$ mm;无抗性. $d\leq 0$ mm。

Note: Strong. Average diameter of antimicrobial circle $d\geq 20$ mm;Middle. $20\text{ mm}>d\geq 15$ mm;Weak. $0<d<15$ mm;None resistance. $d\leq 0$ mm.

3 讨 论

近年来,棉花黄萎病的发生呈逐年上升趋势,作为全国最大优质棉生产基地的新疆产区,连作更为普遍,连作障碍也更为严重^[4]。国内虽已进行了大量棉花黄萎病的综合防治研究,但到目前为止,该土

传病害并未得到有效控制。在探索新的防治途径中,微生物防治技术已引起许多研究者的关注,其中对生防细菌和真菌研究较多^[6,22-24],而对放线菌研究较少,特别是对棉花健株与黄萎病株根区土壤放线菌差异及其拮抗作用的研究更少。研究表明,在含盐量不同的棉田土壤中,棉花黄萎病株根区土

壤中有机质和可溶性总盐含量均高于健株;病株与健株根区土壤 pH 无明显差异。在进行棉花黄萎病情调查和采样时发现,在同一棉田不同部位,棉花黄萎病发病轻重不同,健株与病株同时存在,从棉株根区土壤微环境的化学因素考虑,有机质与可溶性总盐含量与黄萎病存在一定关系,pH 与黄萎病的发生关系不大。其中有机质含量与发病的关系可能与新疆棉区采用的棉秆还田有关,感染棉花黄萎病的棉株不可避免地带有病原菌,棉秆粉碎还田时,病株秸秆上的黄萎病菌也进入土壤,带病菌的秸秆粉碎物在土壤中分布不均匀,棉秆加入量较多部位的病原菌密度大,有机残体多,翌年再种植棉花时,棉株发病率高,对应土壤的有机质测定值也高,依靠有机物生长的放线菌数量也多。本研究结果也支持了这一推论。如棉花黄萎病病株根区土壤中放线菌总数大于健康根区土,其中在中、低盐土壤中,链霉菌、小单孢菌及高氏 1 号培养基上生长的特定伴生细菌数量也具有病株大于健株的趋势。在棉花黄萎病的发病原因中,根区土壤微生态异常是主要因素,其中病原菌数量增加,拮抗菌数量不足,病原菌在根区、根表成为优势菌是侵染成功的重要条件。在有益菌和病原菌的对抗中,放线菌起着重要作用,但不是惟一因素,因此在病健株的比较中会出现一些不规律的现象,其中的复杂关系尚待进一步研究。

另外,目前针对棉花黄萎病生物防治的研究主要集中于细菌和真菌,对生防放线菌研究很少。本研究从新疆棉田土壤中筛选到对棉花黄萎病有拮抗效果的放线菌,为棉花黄萎病的微生态控制及棉花连作障碍微生物修复提供了科学依据及高效生防放线菌。

4 结 论

1)棉花黄萎病株根区土壤中有机质和可溶性总盐含量均高于健株根区土壤;土壤盐分愈少,病株根区土壤有机质含量与健株的差异愈大;病株与健株根区土壤 pH 无明显差异。

2)棉花黄萎病株根区土壤中放线菌总数大于健株根区土壤。在中、低盐土壤中,链霉菌、小单孢菌及高氏 1 号培养基上生长的特定伴生细菌数量也具有病株大于健株的趋势,高盐土壤中的链霉菌及伴生细菌数量与之相反。

3)新疆棉花根区土壤中有较多能拮抗棉花黄萎和枯萎病菌的拮抗性放线菌,对立枯病有拮抗性的放线菌较少;在高盐和中盐棉田中,健株根区土壤中

抗棉花黄萎病菌的拮抗性放线菌比例略高于病株根区土,低盐土壤与之相反。

[参考文献]

- [1] 梅方权. 关于我国棉花生产发展战略问题 [J]. 中国棉花, 1982 (2): 6-9.
Mei F Q. Strategic issue about the development of cotton in China [J]. China Cotton, 1982(2): 6-9. (in Chinese)
- [2] 谭永久, 叶鹏盛, 李琼芳, 等. 棉花抗枯、黄萎病育种技术研究 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(6): 1277-1281.
Tan Y J, Ye P S, Li Q F, et al. Studies on cotton breeding technique resistant to *Fusarium* and *Verticillium* wilts [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(6): 1277-1281. (in Chinese)
- [3] 张 莉, 段维军, 李国英, 等. 新疆棉花黄萎病菌病原种群监测研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(11): 189-193.
Zhang L, Duan W J, Li G Y, et al. Population monitoring study of *Verticillium dahliae* in cotton in Xinjiang [J]. Jour of Northwest Sci-Tech Univ of Agri and For: Natural Science Edition, 2006, 34(11): 189-193. (in Chinese)
- [4] Jian G L, Ma C, Zhang C L, et al. Advances in cotton breeding for resistance to *Fusarium* and *Verticillium* wilt in the last fifty years in China [J]. Agricultural Sciences in China, 2003, 2(3): 280-288.
- [5] 张桂寅, 马峙英, 赵化冰, 等. 中国棉花抗枯、黄萎病品种抗性和产量性状改良进展 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(3): 264-267.
Zhang G Y, Ma S Y, Zhao H B, et al. Genetic improvement on resistance and yield components of Chinese cottons with *Fusarium* and *Verticillium* wilts resistance [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(3): 264-267. (in Chinese)
- [6] 李社增, 马 平. 利用拮抗细菌防治棉花黄萎病 [J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(5): 410-414.
Li S Z, Ma P. Biological control of cotton *Verticillium* wilt by antagonistic bacteria [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2001, 20(5): 410-414. (in Chinese)
- [7] Tjamos E C, Tsitsiyannis D I, Tjamos S E, et al. Selection and evaluation of rhizosphere bacteria as biocontrol agents against *Verticillium dahliae* [C]. Advances in *Verticillium*: Research and disease management. [S. l.]: American Phytopathological Society Press, 2000: 244-248.
- [8] 马 平. 棉花黄萎菌的生态学及棉花黄萎病的生物防治 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2001.
Ma P. The ecology of *Verticillium dahliae* and biocontrol of *Verticillium* wilt in cotton [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2001. (in Chinese)
- [9] 李社增, 鹿秀云, 马 平, 等. 防治棉花黄萎病的生防细菌 NCD-2 的田间效果评价及其鉴定 [J]. 植物病理学报, 2005, 35 (5): 451-455.
Li S Z, Lu X Y, Ma P, et al. Evaluation of biocontrol potential of a bacterial strain NCD-2 against cotton *Verticillium* wilt in field trials [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2005, 35(5): 451-455. (in Chinese)

- [10] 王未名,陈建爱,孙永堂,等. 6 种土传病原真菌被木霉抑制作用机理的初步研究 [J]. 中国生物防治, 1999, 15(3): 142-143.
Wang W M, Chen J A, Sun Y T, et al. Preliminary study on relationship between six species of soilborne plant pathogenic fungi and *Trichoderma* [J]. Chinese Journal of Biological Control, 1999, 15(3): 142-143. (in Chinese)
- [11] 张 璐. 黄瓜枯萎病病原拮抗菌的筛选鉴定及其生防效果研究 [D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2007.
Zhang L. Study on screening, identification and biocontrol effects of antagonistic strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerinum [D]. Taian Shandong: Shandong Agricultural University, 2007. (in Chinese)
- [12] 王美英. 西葫芦白粉病生防放线菌筛选及其防治研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
Wang M Y. Studies on control effect of endophytic actinomycetes on zucchini powdery mildew [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A & F University, 2007. (in Chinese)
- [13] 司美茹,薛泉宏,余 博,等. 36 株生防菌对辣椒疫霉等 4 种病原真菌的拮抗作用研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(1): 49-54.
Si M R, Xue Q H, Yu B, et al. Study on the antagonistic function of thirty-six strains antagonistic actinomycete to four kinds of pathogenic fungi [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 2005, 33(1): 49-54. (in Chinese)
- [14] 司美茹,薛泉宏,余 博,等. 辣椒疫霉生防菌的双重筛选研究 [J]. 植物保护学报, 2006, 33(1): 41-46.
Si M R, Xue Q H, Yu B, et al. The selection of biocontrol actinomycetes against *Phytophthora capsici* by the method assessed inhibiting zones and root-colonizing capacity [J]. Acta Phytomycol Sinica, 2006, 33(1): 41-46. (in Chinese)
- [15] 梁军锋,薛泉宏,牛小磊,等. 7 株拮抗性放线菌在辣椒根部定殖及对辣椒叶片 PAL 与 PPO 活性的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(10): 2118-2123.
Liang J F, Xue Q H, Niu X L, et al. Root colonization and effects of seven strains of actinomycetes on leaf PAL and PPO activities of capsicum [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2005, 25(10): 2118-2123. (in Chinese)
- [16] 孙敬祖,薛泉宏,梁军锋,等. 辣椒疫病生防真菌 F1 的生物学特性及生防作用 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(12): 163-168.
Sun J Z, Xue Q H, Liang J F, et al. Study on some characteristics and the biocontrol effect of fungi numbered F1 [J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition 2006, 34 (12): 163-168. (in Chinese)
- [17] 蔡 艳,薛泉宏,陈占全,等. 青海高原东部土壤辣椒疫霉生防菌的初步筛选 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(2): 241-244.
Cai Y, Xue Q H, Chen Z Q, et al. Preliminary selecting of soil antimicrobials against *Phytophthora capsici* in the eastern part of Qinghai plateau [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2007, 16(2): 241-244. (in Chinese)
- [18] 涂 璇,薛泉宏,张宁燕,等. 辣椒疫病生防放线菌筛选及其对辣椒根系微生物区系的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(6): 141-146.
Tu X, Xue Q H, Zhang N Y, et al. Screening bio-control actinomycetes to control pepper *Phytophthora* blight and the impact of microbial population of pepper s rhizosphere [J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2007, 35(6): 141-146. (in Chinese)
- [19] 程丽娟,薛泉宏. 微生物学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 80-84, 383-404.
Cheng L J, Xue Q H. Experimental techniques of microbiology [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000: 80-84, 383-404. (in Chinese)
- [20] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 农业出版社, 1990: 29-34, 178-187.
Bao S D. Analysis of agri-chemical soil [M]. Beijing: Agricultural Publisher, 1990: 29-34, 178-187. (in Chinese)
- [21] 林超峰,陈占全,薛泉宏,等. 青海三江源区植被退化对土壤养分和微生物区系的影响 [J]. 应用环境生物学报, 2007(6): 788-793.
Lin C F, Chen Z Q, Xue Q H, et al. Effect of vegetation degradation on soil nutrients and microflora in the Sanjiangyuan region of Qinghai [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2007(6): 788-793. (in Chinese)
- [22] 夏正俊,顾本康. 棉株植物内生菌诱导棉花抗黄萎病过程中同工酶活性的变化 [J]. 江苏农业学报, 1997, 13(2): 99-101.
Xia Z J, Gu B K. Isoenzymatic activities involved in induced resistance of cotton to *Verticillium dahliae* by endophytic bacteria [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 1997, 13(2): 99-101. (in Chinese)
- [23] 宋晓研,陈秀兰,孙彩云,等. 棉花黄萎病病菌拮抗木霉的筛选及其抑菌机制的研究 [J]. 山东大学学报: 自然科学版, 2005, 40(6): 98-102.
Song X Y, Chen X L, Sun C Y, et al. Screening of antagonistic *Trichoderma* spp. against *Verticillium dahliae* and study on its mechanism of action [J]. Journal of Shandong University: Natural Science, 2005, 40(6): 98-102. (in Chinese)
- [24] 田 黎,王克荣,陆家云. 柄锈霉对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响 [J]. 中国生物防治, 1998, 14(1): 14-17.
Tian L, Wang K R, Lu J Y. Inhibition of *Stemphylium* sp. on *Verticillium dahliae* mycelial growth and microsclerotium formation [J]. Chinese Journal of Biological Control, 1998, 14 (1): 14-17. (in Chinese)