

网络出版时间:2013-08-26 17:30

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130826.1730.001.html>

拮抗链霉菌对棉花幼苗光合和生长的影响及其在棉花根内的定殖

魏晓丽^{1a}, 陈杰^{1a}, 何斐^{1b}, 顾美英^{2a}, 王东胜^{1a},
薛磊^{1b}, 段佳丽^{1a}, 徐万里^{2b}, 薛泉宏^{1a}

(1 西北农林科技大学 a 资源环境学院, b 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;

2 新疆农业科学院 a 微生物应用研究所, b 土壤肥料与农业节水研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091)

[摘要] **【目的】**探讨棉花黄萎病生防链霉菌 25、Z₉、Z₁₃、X₄ 对棉花光合生理特性和生长的影响及其在棉花根内的定殖情况。**【方法】**采用盆栽接种试验、根内微生物培养测数法,以不接链霉菌、大丽轮枝菌(VD)为空白对照,研究 4 株链霉菌活菌制剂单独接种及与 VD 混合接种后,链霉菌对棉花幼苗光合生理特性和生长的影响及其在棉花根内的定殖量。**【结果】**① 链霉菌 25、Z₉、Z₁₃ 单独接种或与 VD 混合接种时,均能提高棉花幼苗净光合速率、气孔导度、蒸腾速率。② 4 株链霉菌均能明显提高棉花幼苗整株和根系鲜质量,其中 Z₉ 促生作用最稳定,接种 1 次后,其单独接种或与 VD 混合接种处理棉花幼苗根系长度较空白对照、VD 单独接种处理增加了 56.6%~58.1%,根系鲜质量增加 45.9%~54.0% ($P < 0.05$)。③ 菌株 Z₁₃、25、X₄ 单独接种及与 VD 混合接种时均可在棉花根内稳定定殖,在菌剂拌土接种后 60 d,在棉花根内的定殖量仍可达到 $(2.0 \sim 32.0) \times 10^2$ cfu/g; Z₉ 接种 2 次后也能在棉花根内定殖,但定殖量较少。**【结论】**供试链霉菌能明显提高棉花幼苗光合生理并促进棉花生长,2 次接种能促进链霉菌在棉花根内定殖。

[关键词] 生防链霉菌;大丽轮枝菌;定殖;光合生理特性;促生作用;棉花

[中图分类号] Q939.95;S435.621.2⁺4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2013)09-0078-07

Colonization and effects of antagonistic *Streptomyces* on leaf photosynthetic characteristics and growth of cotton seedlings

WEI Xiao-li^{1a}, CHEN Jie^{1a}, HE Fei^{1b}, GU Mei-ying^{2a}, WANG Dong-sheng^{1a},
XUE Lei^{1b}, DUAN Jia-li^{1a}, XU Wan-li^{2b}, XUE Quan-hong^{1a}

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

Abstract: **【Objective】** This study explored the colonization capability of *Verticillium dahliae* antagonistic *Streptomyces* in the root of cotton and effects of the tested *Streptomyces* on cotton leaf photosynthetic characteristics. **【Method】** Using pot experiments and traditional cultured-based microbiological method, the effects of four strains of *Verticillium dahliae* antagonistic *Streptomyces* on cotton growth, leaf photosynthetic characteristics and colonization capability in the root of cotton were studied. Cottons only inoculated VD were the controls. **【Result】** ① Inoculation of *Streptomyces* 25, Z₉, and Z₁₃ individually or mixed with *V. dahliae* significantly promoted the net photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal con-

[收稿日期] 2012-11-19

[基金项目] 国家自然科学基金项目(41261065)

[作者简介] 魏晓丽(1988—),女,新疆昌吉人,在读硕士,主要从事微生物资源研究。

[通信作者] 薛泉宏(1957—),男,陕西白水人,教授,主要从事微生物资源研究。E-mail: xuequanhong@163.com

ductance. ② The fresh plant weights and fresh root weights of cotton seedlings were promoted by all four strains, among which Z_9 had the steadiest growth promotion effect on cotton. The cotton root lengths and fresh root weights increased by 56.6%—58.1% and 45.9%—54.0% after one inoculation, respectively with Z_9 compared to controls ($P < 0.05$). ③ Both individual inoculation of or mixed with *V. dahliae* Z_{13} , Z_{25} , and X_4 steadily colonized in root of cotton. After 60 days of inoculation, the populations were still up to $(2.0-32.0) \times 10^2$ cfu/g in the root of cotton. Z_9 could colony in root as well with fewer amounts after double inoculations. 【Conclusion】 The tested *Streptomyces* could promote growth and leaf photosynthetic characteristics of cotton. The population of *Streptomyces* in the root of cotton could increase by double inoculations.

Key words: *Streptomyces*; *Verticillium dahliae*; colonization; photosynthetic characteristics; growth promotion; cotton

棉花是我国重要的经济作物之一。由大丽轮枝菌侵染根系引起的棉花黄萎病,是影响我国棉花生产的重大病害,该病的防治对我国棉花生产具有重要意义^[1-2]。用于控制作物根区土壤微生物区系的链霉菌制剂,对根部病害的防治较化学农药有其独到之处,能在减轻或防止病原菌对根系侵染、维持根系健康生长的同时促进作物生长^[3-5]。利用链霉菌制剂进行土壤接种,对于从源头上控制棉花黄萎病有重要的潜在应用价值。前期研究表明,西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室筛选的几株棉花黄萎病拮抗链霉菌,可通过代谢产物中的专性抗菌活性物质抑制大丽轮枝菌生长,并通过其分泌的多种真菌胞壁水解酶使大丽轮枝菌菌丝发生酶溶作用^[6-8],且对促进棉花生长及提高棉花的抗旱性有明显效果^[5],表明这几株链霉菌对棉花黄萎病具有重要的生防与促生价值,但这几株链霉菌能否在棉花根内定殖及其对棉花光合生理特性有无影响尚不清楚。鉴于链霉菌在植物根内及根际定殖与否决定了其生防效果,故定殖能力是评估、预测链霉菌生防效果的重要指标。本试验以前期研究中抗病促生效果较好的4株链霉菌为材料,分析其对棉花幼苗光合生理特性的影响及在棉花根内的定殖情况,旨在为供试链霉菌在棉花黄萎病防治中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试病原菌 大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb., VD),属于棉花黄萎病陕西泾阳菌系中的落叶型高致病菌株,由西北农林科技大学植物保护学院杨家荣教授提供。VD的培养采用PDA培养基。

1.1.2 供试链霉菌 供试链霉菌共4株,分别为

25、 Z_9 、 Z_{13} 、 X_4 ,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,是从青藏高原分离的2万余株放线菌中采用皿内拮抗及盆栽试验双重筛选得到的,均对VD有良好的拮抗效果。经菌株形态、培养特征、生理生化及16S RNA鉴定, Z_{25} 、 Z_9 、 Z_{13} 均属黄三素链霉菌(*Streptomyces flavotricini*), X_4 为娄彻氏链霉菌(*Streptomyces rochei*)^[9]。链霉菌的分离及测数采用高氏1号培养基^[10]。

1.1.3 链霉菌活菌制剂 采用固态发酵法制备, Z_{25} 、 Z_9 、 Z_{13} 、 X_4 的菌数分别为 3×10^9 , 1.84×10^9 , 1.62×10^9 和 1.84×10^9 cfu/g。

1.1.4 VD菌悬液 取培养7 d的VD PDA平皿4个,用无菌水将平皿表面的菌丝体和微菌核洗下,定容至250 mL。

1.1.5 供试棉花 抗病棉花“新陆早-26”,由新疆农业科学研究所土壤肥料与农业节水研究所提供。

1.2 试验设计

试验共设10个处理,分别为空白对照(不接种链霉菌和VD, CK)、VD单独接种、4株链霉菌活菌制剂单独接种、4株链霉菌活菌制剂与VD混合接种。接种分2次进行,第1次接种在育苗及移栽时进行,采用将链霉菌制剂拌入育苗基质及盆栽土壤的方法处理;第2次接种在棉花移栽60 d时进行,采用灌根法处理。

1.3 试验方法

试验于2011-06-10在西北农林科技大学资源环境学院栽培场进行,具体试验步骤如下。

1.3.1 盆栽土壤准备 将耕层土过筛,装盆,每盆装土1.5 kg,装盆前向土壤中加入有机肥50 g/kg,基质100 g/kg。

1.3.2 育苗与移栽 链霉菌活菌制剂单独接种及与VD混合接种处理:将已接种链霉菌制剂的育苗

基质装入 32 孔穴盘内,每处理 1 盘,按 2 粒/穴将棉花种子播入,常规管理,6 周后,每处理选取长势一致的 10 穴棉花带基质移栽至已接种链霉菌制剂的 10 个盆钵内。CK 和 VD 单独接种处理:育苗基质和盆栽土壤中均不接种链霉菌制剂,其余步骤同链霉菌活菌制剂单独接种及与 VD 混合接种处理。

1.3.3 链霉菌接种 (1)第 1 次接种。将链霉菌制剂均匀拌入育苗基质或盆栽土壤中。根据供试链霉菌活菌制剂的测数结果计算加入量,使育苗基质中 4 种链霉菌制剂在其单独接种或与 VD 混合接种时的最终孢子量均为 2.76×10^9 cfu/kg;按上述方法制备含相同孢子量的盆栽土壤。

(2)第 2 次接种。在棉花移栽后 60 d 时,先将链霉菌制剂用自来水制成孢子量为 2.1×10^7 cfu/mL 悬液,然后采用灌根法向链霉菌活菌制剂单独接种及与 VD 混合接种处理接种,每盆 200 mL,使土壤中的孢子量为 2.76×10^9 cfu/kg,每处理随机选择 5 盆进行灌根。

1.3.4 VD 接种 (1)第 1 次接种。在棉花播种后 30 d 时,采用灌根法向设定的 VD 单独接种处理以及链霉菌活菌制剂与 VD 混合接种处理的穴盘中接种 1 mL/株 VD 菌悬液。

(2)第 2 次接种。在棉花移栽后 60 d 时进行,采用灌根法向 VD 单独接种处理以及链霉菌活菌制剂与 VD 混合接种处理的盆栽土壤中接种 VD 菌悬液 3 mL/株。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 链霉菌对棉花幼苗光合生理特性的影响 链霉菌制剂拌土接种 45 d 时,采用 Chlorophyll meter SPAD-502 型叶绿素仪检测由下向上测定第 2 片真叶的 SPAD 值;用 LI-6400P 便携式光合作用测定仪于上午 09:00—12:00 测定棉花活体叶片的光合速率(P_n)、蒸腾速率(Tr)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i) 4 项光合生理指标,每处理重复测定 6 片叶子。

1.4.2 链霉菌对棉花幼苗生长的影响 (1)接种 1 次处理。棉花接种 VD 14 d 时,随机采集穴盘内 10 株棉花样品,用自来水冲洗干净根系上附着的泥土,测量棉花株高、整株鲜质量(地上部分+根系),从第 1 条须根生长处将根系剪下,测量根系长度、根系鲜质量。

(2)接种 2 次处理。在盆栽棉花第 2 次接种后的第 30 天,取每处理接种 2 次的 5 个盆钵共 10 株棉花,测定其根系长度和根系鲜质量,方法与接种 1

次处理的相同。

1.4.3 链霉菌在棉花根内的定殖量 (1)接种 1 次处理。棉花移栽 60 d 时,取仅进行 1 次接种的 5 个盆钵共 10 株棉苗,剪下根系,用自来水将根系冲洗干净,再用吸水纸吸干根表水分,剪下根系,在天平上称取 1.00 g 样品,浸入 70 mL/L 酒精 40 s,然后将其在 1 g/L 升汞溶液中浸泡 20 s,取出后在无菌水中浸泡 1.5 min,然后用无菌水冲洗 3 次,将最后一次冲洗液作为对照涂抹于平板上,检验根系表面消毒效果。若 CK 无菌落长出,表明根系表面消毒彻底。将消毒后的材料置于灭菌研钵中,先加入少量的灭菌石英砂,然后加入 10 mL 无菌水将根部组织研磨成汁,按每皿 50 μ L 涂于含有 80 μ g/L 重铬酸钾的高氏 1 号培养基上,28 $^{\circ}$ C 倒置培养 10 d,将供试链霉菌作为参比菌株进行同步培养,将高氏 1 号平皿上从根内分离得到的放线菌与参比菌株进行菌落形态比对,菌落形态完全一致者为定殖菌,计数。设 3 个重复。

(2)接种 2 次处理。将 1.4.2 中测定了生物量的接种 2 次处理的根系用于棉花根内链霉菌定殖量测定,测定方法与接种 1 次处理的相同。

1.5 数据处理

单独接种链霉菌活菌制剂、链霉菌活菌制剂与 VD 混合接种处理各项指标的增幅按下式计算:

$$\Delta CK = \frac{D_a - D_b}{D_b} \times 100\%,$$

$$\Delta VD = \frac{V_a - V_b}{V_b} \times 100\%.$$

式中: ΔCK 为单独接种链霉菌活菌制剂各项指标较 CK 的增幅, D_a 、 D_b 分别为单独接种链霉菌活菌制剂、CK 各项指标的测定值; ΔVD 为链霉菌活菌制剂与 VD 混合接种处理各项指标较 VD 单独接种处理的增幅, V_a 、 V_b 分别为链霉菌活菌制剂与 VD 混合接种、VD 单独接种时各项指标的测定值。

链霉菌活菌制剂和 VD 2 次接种较 1 次接种定殖量的增率按下式计算:

$$\Delta ZH = \frac{Q_a - Q_b}{Q_b} \times 100\%.$$

式中: ΔZH 为链霉菌活菌制剂和 VD 接种 2 次和 1 次的增幅, Q_a 、 Q_b 分别为接种 2 次和 1 次处理的定殖量。

2 结果与分析

2.1 拮抗链霉菌对棉花幼苗光合作用的影响

2.1.1 叶片 SPAD 值 由表 1 可知, Z_9 、 Z_{13} 、 X_4 单

独接种以及 Z₉、Z₁₃、X₄、25 分别与 VD 混合接种处理均能不同程度地提高棉花幼苗叶片的 SPAD 值，其中 25 与 VD 混合接种处理对棉花幼苗 SPAD 值的影响达到显著水平($P<0.05$)。

表 1 拮抗链霉菌对棉花幼苗叶片 SPAD 值的影响

Table 1 Effect of antagonistic streptomycetes inoculation on green degrees of cotton seedlings

处理 Treatment	SPAD 值	ΔCK/%	处理 Treatment	SPAD 值	ΔVD/%
CK	50.3±1.2 a	—	VD	48.8±2.5 b	—
25	50.0±1.8 a	−0.7	25+VD	53.4±3.8 a	9.4
Z ₉	53.1±3.3 a	5.4	Z ₉ +VD	50.6±2.8 ab	3.7
Z ₁₃	51.7±3.2 a	2.6	Z ₁₃ +VD	51.2±2.8 ab	4.8
X ₄	50.5±2.3 a	0.3	X ₄ +VD	48.9±2.0 b	0.2

注:同列数据后标不同小写字母者表示各处理与其对照相比差异达显著水平($P<0.05$)。下表同。
Note:Lowercase letters indicate significant differences at the $P<0.05$ level among different treatments. The same below.

2.1.2 光合生理指标 由表 2 可知,单独接种生防链霉菌时,除 X₄ 处理棉花幼苗的净光合速率略有降低外,其余 3 株链霉菌处理棉花幼苗的净光合速率、气孔导度及蒸腾速率分别较 CK 增加 14.7%~25.6%,39.7%~49.8%及 31.2%~49.2%,差异均达到显著水平($P<0.05$)。4 株链霉菌单独接种处理的胞间 CO₂ 浓度较 CK 降低了 17.3%~24.3%,与 CK 的差异均达到显著水平($P<0.05$)。在链霉菌与 VD 混合接种处理中,Z₉+VD 处理对棉花幼苗 4 项光合生理指标的影响均达显著水平($P<0.05$),其净光合速率、气孔导度及蒸腾速率分别较 VD 单独接种处理增加了 29.1%,47.9%及 35.7%,胞间 CO₂ 浓度降低了 12.1%;X₄、Z₁₃与 VD 混合接种处理棉花幼苗净光合速率较 VD 单独接种处理分别增加了 32.5%和 24.8%,差异均达到显著水平($P<0.05$),其余混合接种处理棉花幼苗的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率较 VD 单独接种处理也均有不同程度的增加,但差异均未达到显著水平。

表 2 拮抗链霉菌对棉花幼苗光合特性的影响

Table 2 Effect of antagonistic streptomycetes inoculation on photosynthetic parameters of cotton seedlings

处理 Treatment	净光合速率(P_n)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		气孔导度(G_s)/ ($10^{-2}\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		蒸腾速率(T_r)/ ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		胞间 CO ₂ 浓度(C_i)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	
	Net photosynthetic rate		Stomatal conductance		Transpiration rate		Intercellular CO ₂ concentration	
	$\bar{X}\pm S$	ΔCK/%	$\bar{X}\pm S$	ΔCK/%	$\bar{X}\pm S$	ΔCK/%	$\bar{X}\pm S$	ΔCK/%
CK	8.0±0.7 b	—	4.2±0.5 b	—	2.7±0.4 c	—	299.8±24.2 a	—
25	10.0±0.7 a	25.6	6.2±1.1 a	47.1	4.1±0.7 a	49.2	235.2±26.2 b	−21.5
Z ₉	9.2±0.6 a	15.8	6.3±0.9 a	49.8	3.6±0.6 ab	31.2	226.8±22.4 b	−24.3
Z ₁₃	9.2±0.8 a	14.7	5.9±0.7 a	39.7	3.9±0.4 a	41.4	235.6±6.6 b	−21.4
X ₄	7.6±0.7 b	−5.0	4.6±0.5 b	8.7	3.0±0.3 bc	8.2	247.8±6.1 b	−17.3

处理 Treatment	净光合速率(P_n)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		气孔导度(G_s)/ ($10^{-2}\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		蒸腾速率(T_r)/ ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		胞间 CO ₂ 浓度(C_i)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	
	Net photosynthetic rate		Stomatal conductance		Transpiration rate		Intercellular CO ₂ concentration	
	$\bar{X}\pm S$	ΔVD/%	$\bar{X}\pm S$	ΔVD/%	$\bar{X}\pm S$	ΔVD/%	$\bar{X}\pm S$	ΔVD/%
VD	6.4±1.1 b	—	4.1±1.1 b	—	2.7±0.7 b	—	230.8±24.8 a	—
25+VD	7.5±1.2 ab	16.7	4.9±1.0 ab	18.0	3.1±0.5 ab	12.5	232.6±23.6 a	0.8
Z ₉ +VD	8.3±1.1 a	29.1	6.1±1.4 a	47.9	3.7±0.7 a	35.7	202.8±15.3 b	−12.1
Z ₁₃ +VD	8.0±1.0 a	24.8	4.9±0.8 ab	18.7	3.1±0.5 ab	12.8	246.0±13.7 a	6.6
X ₄ +VD	8.5±0.4 a	32.5	5.4±0.5 ab	31.4	3.3±0.3 ab	21.6	223.8±14.2 ab	−3.0

2.2 拮抗链霉菌对棉花幼苗生长的影响

2.2.1 株高和整株鲜质量 由表 3 可知,4 株链霉菌均能明显提高棉花整株鲜质量。25、Z₉ 及 X₄ 单独接种处理棉花的整株鲜质量分别较 CK 增加了 16.8%,21.7%及 30.4%,差异均达显著水平($P<0.05$);而 Z₁₃单独接种处理与 CK 差异不显著。4 株链霉菌与 VD 混合接种处理后,棉花整株鲜质量与 VD 单独接种处理的差异均达显著水平($P<0.05$)。4 株链霉菌对棉花幼苗株高的影响表现不一,Z₉、X₄ 单独接种及 Z₉ 与 VD 混合接种处理能显著提高棉花株高,增幅分别为 24.1%,9.5%及 17.8%。以上结果表明,供试链霉菌具有一定的促生作用,特别是在 VD 存在的条件下,生防链霉菌对整株鲜质量的促进作用更明显。其中 Z₉ 不论单独接种还是与 VD 混合接种,均表现出较好的促生作用,Z₁₃ 与 VD 混合接种后的促生效果比 Z₁₃ 单独接种时明显。

表 3 拮抗链霉菌对棉花幼苗株高和整株鲜质量的影响

Table 3 Effect of antagonistic streptomyces inoculation on plant heights and fresh plant weights of cotton seedlings									
处理 Treatment	株高/cm Plant height		整株鲜质量/(g·株 ⁻¹) Fresh plant weight		处理 Treatment	株高/cm Plant height		整株鲜质量/(g·株 ⁻¹) Fresh plant weight	
	$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{CK}/\%$	$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{CK}/\%$		$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{VD}/\%$	$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{VD}/\%$
CK	25.7±0.7 c	—	2.7±0.3 c	—	VD	24.8±1.2 b	—	2.6±0.3 b	—
25	25.9±3.7 c	0.6	3.2±0.3 ab	16.8	25+VD	22.0±1.2 c	−11.4	3.2±0.4 a	21.2
Z ₉	31.9±1.0 a	24.1	3.3±0.4 ab	21.7	Z ₉ +VD	29.2±1.4 a	17.8	3.3±0.4 a	27.3
Z ₁₃	23.2±0.8 d	−9.9	3.0±0.3 bc	9.3	Z ₁₃ +VD	24.5±1.5 b	−1.0	3.4±0.4 a	31.1
X ₄	28.1±1.9 b	9.5	3.6±0.4 a	30.4	X ₄ +VD	25.4±1.6 b	2.5	3.2±0.3 a	20.7

2.2.2 根系长度和鲜质量 由表 4 可以看出,供试链霉菌对棉花幼苗根系生长有明显影响。1 次接种各处理中,单独接种链霉菌时,25 和 Z₉ 均能增加棉花的根系长度和根系鲜质量,其中 Z₉ 单独接种处理棉花根系长度和根系鲜质量分别较 CK 增加 56.6% 和 54.0%,且差异均达到显著水平($P<0.05$);25 单独接种处理的棉花幼苗根系鲜质量较

CK 增加了 116.2% ($P<0.05$)。链霉菌与 VD 混合接种时,除 X₄+VD 处理外,其余 3 株链霉菌与 VD 混合接种均能不同程度地促进棉花幼苗根系生长,其中 Z₉ 与 VD 混合接种处理的促进作用最明显,棉花幼苗根系长度和根系鲜质量较 VD 单独接种处理分别增加了 58.1% 和 45.9%。

表 4 拮抗链霉菌对棉花幼苗根系生长的影响

Table 4 Effect of antagonistic streptomyces inoculation on root growth of cotton seedlings					
接种次数 Inoculation times	处理 Treatment	根系长度/cm Root length		根系鲜质量/(g·株 ⁻¹) Fresh root weight	
		$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{CK}/\%$	$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{CK}/\%$
1 次 Once	CK	3.4±0.6 b	—	0.4±0.1 c	—
	25	3.5±0.9 b	2.6	0.8±0.2 a	116.2
	Z ₉	5.3±2.5 a	56.6	0.6±0.2 b	54.0
	Z ₁₃	3.3±0.8 b	−3.6	0.6±0.2 bc	51.6
	X ₄	3.2±0.9 b	−4.3	0.5±0.2 bc	27.4
2 次 Twice	CK	11.9±1.6 b	—	3.0±0.7 ab	—
	25	13.7±3.5 ab	15.0	3.2±0.3 a	5.9
	Z ₉	14.1±3.9 ab	18.2	2.9±0.6 ab	−4.4
	Z ₁₃	10.7±3.3 b	−10.2	2.0±0.3 c	−34.9
	X ₄	16.4±4.1 a	37.8	2.5±0.4 bc	−17.4
接种次数 Inoculation times	处理 Treatment	根系长度/cm Root length		根系鲜质量/(g·株 ⁻¹) Fresh root weight	
		$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{VD}/\%$	$\bar{X}\pm S$	$\Delta\text{VD}/\%$
1 次 Once	VD	3.0±0.9 bc	—	0.4±0.1 b	—
	25+VD	3.5±0.8 b	17.6	0.5±0.2 ab	14.6
	Z ₉ +VD	4.7±0.7 a	58.1	0.6±0.2 a	45.9
	Z ₁₃ +VD	3.0±1.0 bc	1.9	0.6±0.2 a	55.5
	X ₄ +VD	2.5±0.5 c	−15.0	0.4±0.2 b	−6.6
2 次 Twice	VD	9.7±1.6 a	—	2.3±0.2 a	—
	25+VD	13.3±2.1 a	37.2	2.9±0.7 a	23.9
	Z ₉ +VD	12.9±1.5 a	33.1	2.6±0.3 a	9.7
	Z ₁₃ +VD	13.6±3.9 a	39.6	2.9±0.9 a	24.1
	X ₄ +VD	11.6±4.9 a	18.9	3.0±0.6 a	28.8

由表 4 还可以看出,2 次接种链霉菌制剂和病原菌对棉花根系生长也有一定影响。单独接种链霉菌处理中,除 X₄ 单独接种处理棉花根系长度较 CK 显著增加外,其余链霉菌单独接种处理与 CK 差异不显著。4 株链霉菌与 VD 混合接种处理棉花幼苗根系长度和根系鲜质量较 VD 单独接种处理分别增加 18.9%~39.6% 和 9.7%~28.8%,但差异均未达显著水平。另外,Z₁₃ 单独接种处理时对根系生长

表现为抑制作用,而其与 VD 混合接种处理后的表现则相反,根系长度和根系鲜质量的增幅分别为 39.6% 和 24.1%;与 25、Z₉ 单独接种处理较 CK 的增幅相比,这 2 株菌与 VD 混合接种处理的根系长度和根系鲜质量较 VD 单独接种处理的增幅更明显。

2.3 拮抗链霉菌在棉花根内的定殖情况

由表 5 可知,接种 1 次时,Z₁₃、25、X₄ 不论单独

接种还是与 VD 混合接种,均能在棉花根内定殖。在单独接种处理中, X₄ 的定殖量最大, 可达到 32.0×10² cfu/g;混合接种处理中, 25+VD 处理的定殖量最大, 为 4.7×10² cfu/g。Z₁₃ 与 VD 混合接种后链霉菌的定殖量较 Z₁₃ 单独接种处理增加了

65.0%, X₄ 与 VD 混合接种的定殖量较 X₄ 单独接种处理减少了 93.8%, 表明 VD 对这 2 株菌在棉花根内的定殖能力影响较大。Z₉ 不论是单独接种还是与 VD 混合接种, 均不能在棉花根内稳定定殖。

表 5 拮抗链霉菌在棉花根内的定殖量

Table 5 Colonization quantities of the antagonistic streptomycetes on the roots of cotton

处理 Treatment	定殖量(×10 ² cfu/g) Colonization quantity		ΔZH/%	处理 Treatment	定殖量(×10 ² cfu/g) Colonization quantity		ΔZH/%
	接种 1 次 Once inoculation	接种 2 次 Twice inoculation			接种 1 次 Once inoculation	接种 2 次 Twice inoculation	
CK	0	0	—	VD	0	0	—
25	6.7±6.4	17.8±6.1	166.9	25+VD	4.7±1.2	43.8±6.3	837.9
Z ₉	0	10.0±4.0	—	Z ₉ +VD	0	9.1±1.4	—
Z ₁₃	2.0±0.0	389.0±74.9	19 350.0	Z ₁₃ +VD	3.3±1.2	79.2±13.2	2 278.4
X ₄	32.0±8.7	58.7±11.6	83.4	X ₄ +VD	2.0±0.0	13.3±2.7	565.0

由表 5 还可知,接种 2 次链霉菌活菌制剂和 VD 后能促进链霉菌在棉花根内定殖。第 2 次接种 30 d 时,不论是单独接种还是与 VD 混合接种,4 株链霉菌在棉花根内的定殖量较接种 1 次时均有明显增加, Z₁₃ 单独接种和与 VD 混合接种时的定殖量增幅最大,较接种 1 次时分别增加了 193.5 和 22.78 倍; X₄ 的增幅最少,分别为 83.4% 和 565%。Z₉ 接种 2 次后也能在棉花根内定殖,但其定殖量在 4 株链霉菌中最少, Z₉ 单独接种和与 VD 混合接种时的定殖量分别为 10.0×10² 和 9.1×10² cfu/g。

3 结论与讨论

光合作用是植物赖以生存的关键。棉花是喜光作物,光合作用对其经济产量影响很大。研究发现,光合细菌和内生固氮菌能促进植物的光合作用^[11-12]。本研究发现,不论单独接种还是与 VD 混合接种,链霉菌均可提高棉花幼苗的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率,降低胞间 CO₂ 浓度。其中 Z₉ 对棉花幼苗光合生理特性的影响较大,不论土壤中是否存在 VD, Z₉ 接种处理与 CK、单独接种 VD 处理棉花幼苗的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率、胞间 CO₂ 浓度差异明显。与单独接种 VD 处理相比,在 VD 存在的土壤中,接入 Z₉ 可防止病原菌对棉花光合能力的损害。在土传病害的生物防治中,生防菌在植株根内定殖与否是决定该菌能否有效控制植物病害的关键。定殖能力和竞争能力强是生防微生物发挥生防作用的前提条件^[13]。郭慧娟等^[14] 对拮抗细菌在棉花根部的定殖量进行了研究,结果显示,拮抗细菌具有较高的定殖稳定性,接种 5 个月后芽孢杆菌在棉花根内的定殖量仍达到 10³ cfu/g,并且保

持较高的抑菌活性。王涛等^[15] 的研究表明,接种 45 d 后,棉花黄萎病拮抗细菌 DS45-2 在棉花根内的定殖量可达 2.35×10⁴ 个/g。但目前还未见关于棉花黄萎病拮抗链霉菌在棉花根部的定殖研究。

本研究供试的链霉菌不论是在单独接种还是与 VD 混合接种条件下均能在棉花根内定殖,但是定殖稳定性表现不一。其中 Z₁₃、X₄、25 这 3 株链霉菌能在棉花根内稳定定殖,表现在拌土接种 60 d 时,在棉花根内的定殖量仍然达到 (2.0~32.0)×10² cfu/g,表明这 3 株链霉菌与土著微生物之间的竞争能力较强,能在棉花根内稳定定殖。此外,不同链霉菌定殖能力受病原菌 VD 的影响不同,其中 Z₁₃ 和 X₄ 的定殖受 VD 的影响较大,接种 1 次时,VD 的存在有利于 Z₁₃ 在棉花根内的定殖,其定殖量较单独接种 Z₁₃ 增加了 65.0%,而 X₄ 则与之相反,有 VD 存在时其定殖量较单独接种 X₄ 时减少了 93.8%。而接种 2 次后, Z₁₃ 定殖量较接种 1 次时有大幅度增加, Z₁₃ 单独接种和与 VD 混合接种时的定殖量分别增加了 193.5 和 22.78 倍,说明链霉菌制剂和病原菌接处 2 次后均能促进链霉菌在棉花根内定殖。梁军锋等^[16] 也发现,辣椒疫霉能促进放线菌在辣椒根内定殖。

链霉菌定殖对其防病促生效果发挥着重要作用,但链霉菌定殖与促生效果之间是否存在相关性尚无报道。本研究发现,不论是单独接种还是与 VD 混合接种,4 株供试链霉菌均基本上能提高棉花整株和根系的鲜质量,但其中 Z₉、25 促生作用的发挥与其在棉花根内的定殖量无明显的相关性; Z₉ 的定殖能力较差,但其促生效果最为稳定。Z₁₃、X₄ 的促生效果受其在棉花根内定殖量的影响较大,表现

为当有 VD 存在时, X_4 定殖量比单独接种 X_4 时减少了 93.8%, 整株鲜质量和根系鲜质量均较单独接种时有不同程度的降低; Z_{13} 与 VD 混合接种后, 定殖量增加, 同时棉花整株和根系鲜质量也明显增大。

本研究结果表明, 无论 VD 存在与否, 供试链霉菌对棉花生长和光合作用均有明显影响, 其中 Z_9 的促生效果最稳定, VD 的存在更有利于链霉菌 Z_{13} 促生作用的发挥。由此可以推知, 在有 VD 存在的连作棉田中, 这 2 株菌株仍然具有促进棉花生长和提高光合生理特性的作用。在实际应用中, 可以通过在合适时间多次接种 Z_9 和 Z_{13} 或通过加大接种量的方法, 保证链霉菌在棉田中的数量达到较高水平, 以实现其防病促生作用。

[参考文献]

- [1] 王莉梅, 石磊岩. 北方棉区棉花黄萎病菌落叶型菌系鉴定 [J]. 植物病理学报, 1999, 29(2): 181-189.
Wang L M, Shi L Y. Identification of defoliating strains of *Verticillium dahliae* from cotton in north China [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1999, 29(2): 181-189. (in Chinese)
- [2] 周兆华, 张天真, 潘家驹, 等. 大丽轮枝菌在棉花品种上的致病力分化研究 [J]. 中国农业科学, 2000, 33(2): 51-57.
Zhou Z H, Zhang T Z, Pan J J, et al. Pathogenicity differentiation of *Verticillium dahliae* on cotton varieties [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2000, 33(2): 51-57. (in Chinese)
- [3] 孙敬祖, 薛泉宏, 唐明, 等. 放线菌制剂对连作草莓根区微生物区系的影响及其防病促生作用 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(12): 153-158.
Sun J Z, Xue Q H, Tang M, et al. Study on the effect of actinomycetes on microflora of replanted strawberry's root domain and the bio-control effectiveness [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Edi, 2009, 37(12): 153-158. (in Chinese)
- [4] 段春梅, 薛泉宏, 赵娟, 等. 放线菌剂对黄瓜幼苗生长及叶片 PPO 活性的影响 [J]. 西北农业学报, 2010, 19(9): 48-54.
Duan C M, Xue Q H, Zhao J, et al. Effects of antimicrobial actinomycetes on growth and PPO activity in cucumber [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2010, 19(9): 48-54. (in Chinese)
- [5] 陈秦, 薛泉宏, 申光辉, 等. 放线菌对棉花幼苗生长及抗旱能力的影响 [J]. 西北农业学报, 2010, 19(8): 84-89.
Chen Q, Xue Q H, Shen G H, et al. Effect of actinomycetes seed coating agent on cotton growth and drought resistance [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2010, 19(8): 84-89. (in Chinese)
- [6] 薛磊, 薛泉宏, 卢建军, 等. 棉花黄萎病原真菌菌体对链霉菌 4 种胞外水解酶活性的影响 [J]. 植物病理学报, 2012, 42(1): 73-83.
Xue L, Xue Q H, Lu J J, et al. Influence of *Verticillium dahliae*

- mycelium on 4 types of extracellular hydrolases activity of *Streptomyces* [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2012, 42(1): 73-83. (in Chinese)
- [7] 薛磊, 王建涛, 刘相春, 等. 拮抗性链霉菌对大丽轮枝菌微菌核形成与萌发的影响 [J]. 植物保护学报, 2012, 39(4): 289-296.
Xue L, Wang J T, Liu X C, et al. Inhibition of antagonistic *Streptomyces* spp. on microsclerotia formation and germination of *Verticillium dahliae* [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2012, 39(4): 289-296. (in Chinese)
- [8] 薛磊, 薛泉宏, 赵娟, 等. 大丽轮枝菌菌体对链霉菌胞外蛋白酶活性及抑菌效果的影响 [J]. 棉花学报, 2012, 24(1): 78-84.
Xue L, Xue Q H, Zhao J, et al. Influence of *Verticillium dahliae* mycelium on extracellular proteases and antifungal activity of *Streptomyces* [J]. Cotton Science, 2012, 24(1): 78-84. (in Chinese)
- [9] Xue L, Xue Q H, Chen Q, et al. Isolation and evaluation of rhizosphere actinomycetes with potential application for biocontrol of *Verticillium* wilt of cotton [J]. Crop Protection, 2013, 43: 231-240.
- [10] 程丽娟, 薛泉宏, 来航线, 等. 微生物学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 383-384.
Cheng L J, Xue Q H, Lai H X, et al. Microbe experiment technology [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000: 383-384. (in Chinese)
- [11] 宋兴舜, 任静, 刘雪梅, 等. 光合菌对黄瓜光合及抗氧化同工酶的影响 [J]. 植物学报, 2009, 44(5): 587-593.
Song X S, Ren J, Liu X M, et al. Effects of photosynthetic bacteria on photosynthesis and antioxidative isoenzymes in cucumber (*Cucumis sativus*) [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2009, 44(5): 587-593. (in Chinese)
- [12] 吴凯朝, 梁俊, 韦莉萍, 等. 内生固氮菌对甘蔗伸长长期光合生理特性的影响 [J]. 广西植物, 2011, 31(5): 668-673.
Wu K C, Liang J, Wei L P, et al. Effects of nitrogen fixing bacteria on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sugarcane at elongating stage [J]. Guihaia, 2011, 31(5): 668-673. (in Chinese)
- [13] 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.
Nian H J, Chen L M. Factors affecting the competitive colonization of beneficial bacteria in plant rhizosphere: A review [J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(6): 1235-1239. (in Chinese)
- [14] 郭慧娟, 李术娜, 李红亚, 等. 棉花黄萎病拮抗菌 HMB-1005 鉴定及定殖 [J]. 中国土壤与肥料, 2011(2): 84-87.
Guo H J, Li S N, Li H Y, et al. Studies on identification and colonization of antagonistic bacteria HMB-1005 to cotton *Verticillium dahliae* [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2011(2): 84-87. (in Chinese)