

滴灌条件下枯草芽孢杆菌 S37 和 S44 对棉花黄萎病的防治效果

罗燕娜, 杜娟, 李俊华, 闫豫君, 赵思峰*

(石河子大学农学院/石河子大学绿洲农作物病害防控重点实验室, 石河子 832003)

摘要 采用拌种和随水滴施 2 次的方法测定了 2 株芽孢杆菌对棉花黄萎病的防治效果。结果表明, 在滴灌条件下 2 株枯草芽孢杆菌对棉花黄萎病均表现出较好的防治作用, 在小区试验中, S37 和 S44 对棉花黄萎病的防治效果分别为 29.86% 和 42.81%, 产量分别增加了 25.22% 和 34.73%。在田间试验中, S37 在 143 团和 147 团的防病效果分别为 51.3% 和 55.1%, 增产效果分别达到 7.43% 和 17.62%, S44 在 143 团和 147 团的防病效果分别为 35.2% 和 39.3%, 增产效果分别达到 5.56% 和 15.51%。

关键词 枯草芽孢杆菌; 棉花黄萎病; 滴灌; 生物防治

中图分类号: S 476 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.0529-1542.2011.02.040

Control efficacy of *Bacillus subtilis* S37 and S44 against cotton *Verticillium* wilt by under-mulch-drip irrigation

Luo Yanna, Du Juan, Li Junhua, Yan Yujun, Zhao Sifeng

(The Key Laboratory of Prevention and Control for Oasis Crop Disease / College of Agronomy, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract In order to appraise the applied potentiality of *Bacillus subtilis* S37 and S44 in controlling cotton *Verticillium* wilt, their control efficacy was studied by seed dressing and drip irrigation in pot, plot and field tests. The results showed that the antagonistic strain S37 and S44 had better control efficacy (29.86% and 42.81%, respectively) than the control under-mulch-drip irrigation, and significantly increased the yield by 25.22% and 34.73%. The field trials of antagonistic strain S37 showed that its control efficacy to cotton *Verticillium* wilt was 51.3% in the regiment 143 and 55.1% in the regiment 147, increasing the yield by 7.43% and 17.62%, respectively. The field trials of antagonistic strain S44 showed that its control efficacy to cotton *Verticillium* wilt was 35.2% in the regiment 143 and 39.3% in the regiment 147, increasing the yield by 5.56% and 15.51%, respectively.

Key words *Bacillus subtilis*; cotton *Verticillium* wilt; under-mulch-drip irrigation; biological control

由大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)引起的棉花黄萎病是世界性的重要病害,在我国各产棉区危害日益加重,据统计 2002 年我国黄萎病发病面积高达 300 万 hm²^[1],已成为制约我国棉花产业发展的瓶颈问题。新疆作为我国最适宜棉区和最大的优质商品棉生产基地,每年种植棉花面积已经稳定在 140 万 hm² 以上,占新疆总耕地面积的 1/3^[2]。在宜棉区,棉花面积占耕地的比例高达 70%~80%^[3],连作现象十分严重。随着连作年限的延长,

黄萎病发病率和发病面积逐年增加,目前已成为新疆棉花高产、稳产的主要障碍之一。由于黄萎病菌能够在棉花病残体上,甚至直接在土壤中存活达十几年,且菌量可以常年积累^[4],虽然国内外在抗病育种、农业防治和化学防治措施等方面做了大量工作,但这些防病措施的效果并不尽如人意^[5~6]。随着绿色农业、有机农业的兴起,以及生物防治机理的不断明确,利用微生物防治棉花黄萎病被认为是最具有发展潜力的重要防治方法之一,利用从土壤中筛选

收稿日期: 2010-01-13 修订日期: 2010-03-15

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(200803031);教育部春晖计划(Z2006-1-83016);新疆兵团基础研究计划(ZD2007JC02);石河子大学高层次人才计划(RCZX-200811)资助

* 通信作者 E-mail: zhsf_agr@shzu.edu.cn

到的拮抗微生物来防治该病害成为研究的热点^[7]。

作者从新疆棉田土壤中分离、筛选出了对棉花黄萎病菌、枯萎病菌、立枯病菌和加工番茄根腐病菌均有显著拮抗作用的2株枯草芽孢杆菌S37和S44,利用新疆棉花种植过程中采用膜下滴灌的栽培技术优势^[8],采用拌种和随水滴施的方法验证其防治棉花黄萎病的效果。

1 材料与方法

1.1 材料

棉花种子为‘新陆早13号’,购买于石河子市种子市场。

供试拮抗细菌S37和S44自新疆棉田土壤中分离获得,前期研究证明对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、尖镰孢(*Fusarium oxysporum*)、大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)和瓜果腐霉(*Pythium aphanidermatum*)都有较好的抑制效果,经形态观察和16S rDNA序列分析鉴定为枯草芽孢杆菌^[9]。供试病原菌棉花黄萎病菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)由石河子大学绿洲农作物病害防控重点实验室分离保存。

供试土壤为棉田土壤,过筛,在烘箱中160℃灭菌2 h备用。

1.2 培养基

PDA培养基(PDA)^[10]:去皮马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂18 g、蒸馏水1 000 mL, pH 6.8。

NA液体培养基^[10]:牛肉膏3 g、蛋白胨5 g、NaCl 5 g、葡萄糖10 g、蒸馏水1 000 mL, pH 7.0~7.2。

NA固体培养基^[10]:牛肉膏3 g、蛋白胨5 g、NaCl 5 g、葡萄糖10 g、琼脂18 g、蒸馏水1 000 mL, pH 7.0~7.2。

Czapek培养基^[10]:NaNO₃ 2 g、K₂HPO₄ 1 g、MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g、KCl 0.5 g、FeSO₄ 0.01 g、蔗糖30 g、水1 000 mL。

大麦棉籽壳培养基:将大麦浸泡1 d后与棉籽壳按5:1的比例混合,然后将其装入蘑菇袋中灭菌备用。

1.3 拮抗菌防治棉花黄萎病盆栽效果测定

将棉花黄萎病菌转到PDA平板上进行活化,7 d后用打孔器(直径8 mm)取同菌龄的菌饼接种于查氏培养基中,28℃ 150 r/min摇床7 d后接种于灭菌后的麦粒培养基中,室温培养14 d。将2株

拮抗菌接种于NA斜面培养基上活化,48 h后挑取菌体接种于NA液体培养基中28℃ 200 r/min摇床48 h后备用。挑取饱满、无破损的棉花种子于拮抗菌发酵液中浸泡30 min后取出晾干备用。

将处理的棉种播种于装有菌土[m(无菌土):m(麦粒培养基)=6:1]的营养钵内,每钵播种10粒种子后覆盖无菌土,每处理设3个重复,设有菌土播种不处理种子和无菌土播种不处理种子2个对照。苗期调查记录各处理黄萎病的发病率和病情指数^[11],并计算拮抗菌对棉花黄萎病的相对防病效果。

1.4 拮抗菌防治棉花黄萎病小区效果测定

2009年在石河子大学农学院试验站棉花黄萎病病圃中测定了2株拮抗菌对棉花黄萎病的防病效果,小区面积66 m²,已连续3年播撒过棉花黄萎病菌,棉花黄萎病发生较为均匀且发生严重。棉花栽培方式为膜下滴灌栽培模式,采用人工点播将处理的种子播于播种行中,每行播种棉种粒数保持一致。每个拮抗菌处理的种子播种3行,并设种子不处理的空白对照,不同处理间采用随机排列。分别于灌头水和二水时将稀释好(浓度为1×10⁷ cfu/mL)的发酵液随滴灌带滴入各处理行中,每行滴施稀释的发酵液100 mL。于10月上旬棉花基本吐絮时剖秆调查发病率和病情指数,并计算相对防治效果。同时测定不同处理间的籽棉产量和衣分。

1.5 拮抗菌防治棉花黄萎病大田效果测定

2009年分别在石河子市143团和147团棉花黄萎病重病田中测定了2株拮抗菌对棉花黄萎病的防病效果。在143团10连设置了10 hm²试验田,其中S37设置4 hm²,S44设置4 hm²,对照设置2 hm²,所用棉花品种为‘新陆早36号’,膜下滴灌栽培模式。用拮抗菌发酵液直接处理棉种,拌种比例为m(棉籽):V(发酵液)=30:1,将拮抗菌均匀拌种在棉籽上后将种子晾干,采用膜上精量点播的方式播种,所有管理方式均保持一致,生防菌拌种的处理分别在棉花滴头水和滴二水时将拮抗菌发酵液装入施肥罐中随水滴施入棉花根际。在147团种子站设置处理3 hm²,其中S37设置1 hm²,S44设置1 hm²,对照设置1 hm²,所用棉花品种为‘710’,膜下滴灌栽培模式,种子处理方式和拮抗菌施用方式与143团的一致。在棉花吐絮时分别在2块试验地中采用五点取样法剖秆调查发病率和病情指数,并

计算相对防治效果。同时测定不同处理间的籽棉产量。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌防治棉花黄萎病盆栽效果

在温室盆栽条件下,用2株拮抗菌发酵液处理棉种后在有棉花黄萎病菌存在时均能提高棉花出苗率并降低棉花黄萎病的发病率(表1)。S37和S44的出苗率分别为76%和73%,两株菌对棉花黄萎病的相对防效分别为85.64%和85.07%。

表1 拮抗菌防治棉花黄萎病的温室盆栽效果¹⁾

处理	出苗率/%	发病率/%	病情指数	相对防效/%
S37	73 a	47 b	2.26 b	85.64 a
S44	76 a	40 b	2.35 b	85.07 a
无菌土 CK	80 a	—	0.00	—
接病原菌 CK	70 a	67 a	15.74 a	—

1) 同列不同字母为 $p < 0.05$ 水平差异显著。

2.2 拮抗菌防治棉花黄萎病小区效果

在发病严重的病圃小区中,用2株拮抗菌发酵液处理棉种后能提高棉花的保苗株数,采用滴灌拮抗菌发酵液2次后能有效降低棉花黄萎病的发病率(表2)。采用拮抗菌发酵液拌种后,每个处理的保苗株数均高于未拌种处理的对照,S37和S44的保苗株数分别为97株和87株,而对照的保苗株数仅为73株。经拌种和随水滴施拮抗菌发酵液2次后,S37和S44对棉花黄萎病的防治效果分别达到29.86%和42.81%,每株平均棉桃数分别为5.27个和4.80个,而对照仅为4.17个,与对照相比,产量分别增加了25.22%和34.73%。

表2 2009年生防菌防治棉花黄萎病病圃防效

处理	总株数	发病率/%	病情指数	相对防效/%	平均		收获率/%	增产率/%	衣分
					棉桃数	/个·株 ⁻¹			
S37	95	62.29	32.54 b	29.86 b	5.27 a	1.126	25.22	0.41	
S44	87	53.81	26.53 b	42.81 a	4.80 ab	1.290	34.73	0.39	
CK	73	77.23	46.39 a	—	4.17 c	0.842	—	0.40	

1) 同列不同字母为 $p < 0.05$ 水平差异显著。

2.3 拮抗菌防治棉花黄萎病大田效果

在重病田中,用2株拮抗菌发酵液处理棉种以及采用滴灌拮抗菌发酵液2次后在2块田中均表现出较好的防治棉花黄萎病的效果(表3)。其中S37在143团和147团的防病效果分别为51.3%和55.1%,增产效果分别达到7.43%和17.62%,S44在143团和147团的防病效果分别为35.2%和

39.3%,增产效果分别达到5.56%和15.51%。

表3 2009年生防菌防治棉花黄萎病大田防病效果

处理	发病率/%	病指	相对防效/%	产量/kg	增产率/%
143团	S37	35.20	18.8 b	51.30 a	351.74 a
	S44	36.40	25.0 b	35.20 b	345.58 a
	CK	62.40	38.6 a	—	327.40 ab
147团	S37	50.80	18.2 b	55.10 a	411.18 a
	S44	59.20	24.6 b	39.30 b	403.79 a
	CK	70.80	40.5 a	—	349.58 b

1) 同列不同字母为 $p < 0.05$ 水平差异显著。

3 讨论

利用拮抗细菌防治棉花黄萎病目前是十分活跃的研究领域之一,已筛选出很多生防菌并且有些已经进入大田试验,且表现出了较好的防病效果和显示出良好的应用前景。枯草芽孢杆菌可产生细菌素类、酶类、活性蛋白质类、肽类、多肽类等多种抑菌物质抑制病原菌的生长^[14-15]。同时,可以调节植物根际微生物种群结构和提高植物免疫能力,从而进一步提高了其防治棉花黄萎病的效果^[16]。本研究所采用的2株拮抗细菌经鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),充分利用新疆膜下滴灌栽培的技术模式,将芽孢杆菌发酵液随水滴施入棉花根际,表现出了良好的防病效果,这种施用方式具有简便易行、可多次施用并且施用量可控等优点,为生防菌及生物农药防治植物土传病害提供了一种新的施用方式。但由于新疆地域辽阔,生态环境复杂,存在多种不利于生防菌定殖的环境因子,同时生防菌进入棉田土壤后,受其他微生物的影响也可能影响其生物活性,因此这2株拮抗菌在不同试验区表现出了不同的防病效果和增产效果。如果能在剂型和使用方式上找到能使生防菌活性更稳定的因子,使其真正能够发挥防病和促生作用,将具有较好的推广应用前景,同时生防菌的不同施用时间和施用时间对棉花黄萎病会有怎样的防效,还需要进一步进行探索,这些问题将在以后进行深入研究。

参考文献

- [1] 简桂良,邹亚飞,马存,等.棉花黄萎病连年流行的原因及对策[J].中国棉花,2003,30(3):13-14.
- [2] 刘晏良.棉花发展战略研究[M].北京:中国统计出版社,2006.
- [3] 龚明福,贺江舟,孙晓棠,等.土壤微生物与土壤抑病性形成关系研究进展[J].新疆农业科学,2007,44(6):814-819.

(下转181页)