

# 串珠镰刀菌对棉花枯萎病的交互保护作用研究

张慧杰 李建社 张卓敏

(山西省农科院棉花研究所,运城)

**摘要** 试验证明,人工给棉花接种串珠镰刀菌,可对棉花枯萎病产生交互保护作用;采用五氯硝基苯拌种诱发自然串珠镰刀菌,同样可达到上述目的;在进行交互保护作用的同时,棉花不会因该菌的作用,而出现大量死苗和影响寄主生长发育的现象。另外还观察到,串珠镰刀菌和棉花枯萎菌之间具有互为抑制作用,抑制力强弱,取决于二者先后间隔接种时间的早晚;除两种菌等量分开接种,在培养皿中心产生拮抗带外,二者等量和倍量混合接种,均长出单一的串珠镰刀菌。

**关键词** 串珠镰刀菌;交互保护;棉花枯萎病

枯萎病(致病菌为 *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) 是棉花的一种毁灭性病害,利用寄主系统发育中的先天免疫性(抗病品种)是控制枯萎病的重要手段。但是,棉花的抗病性和高产优质特性还难以在一个品种上体现。因此,增强棉花后天免疫性,提高抗病力,达到优质丰产的目的,是当前急待解决的问题。

利用真菌间的交互保护作用(Cross-Protection)可以减轻作物病害,这是近年来国际上报道较多的一项人工免疫手段。例如镰刀菌(*Fusarium*) 具有丰富的生防菌种资源,已很早就为研究者所瞩目。

串珠镰刀菌(*F. moniliforme*, 以下简称为 *Fm*) 可以减轻棉花枯萎病的发生<sup>[1]</sup>。本文根据该菌侵染时间早,侵染株率高,在我国主要产棉区致病力弱的特点<sup>[2,3]</sup>,以它作为供试菌种开展了本研究。

## 材 料 和 方 法

### (一) 材料

1. 供试菌种:在晋南棉区采集典型棉苗红腐病和枯萎病标本,经分离、纯化后,得到串珠镰刀菌和棉花枯萎病菌(以下简称为 *Fo*)。

2. 培养基及菌种培养:菌种平板培养采用 PDA 培养基;菌种扩大繁殖采用麦粒砂培

养基(小麦 1 份,先煮沸 30 分钟,然后掺砂 2 份,混匀,装入广口瓶,在  $1.41 \text{ kg/cm}^2$  灭菌 1 小时)。菌种培养温度为  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,培养时间 15 天。

3. 菌悬液制备:挑取平板培养生长良好的 *Fm* 和 *Fo* 繁殖体,分别放入装有 50 ml 无菌水的三角瓶内,振荡 10 分钟。然后,用血球计数板测定两种菌液的浓度,最终调整浓度到每毫升菌悬液约含  $114 \times 10^5$  个孢子为宜。

4. 棉种:“晋棉 4 号”感病(枯萎病)品种,经用粗硫酸(比重 1.8)脱绒,再用 70%“402”(乙烷硫代磺酸乙酯)抗菌剂 2000 倍热液( $60^\circ\text{C}$ )浸闷 30 分钟处理的无菌种子。

5. 土壤:①取自棉花枯萎病重病田 0—20 cm 耕层的自然枯萎病土;②以盆钵所含土重 1% 的 *Fo* 麦粒砂量,向无菌土(经 100 倍福尔马林稀释液消毒的土壤)接种而成的人工枯萎病土。

6. 药剂:40% 五氯硝基苯粉剂(山西临汾农药厂生产)。

7. 盆钵规格:直径 40cm,高 40cm 的瓦盆。

### (二) 方法

1. 人工交互保护:①盆钵试验:分别向

本所张振国、吉贞芳两位同志先后参加了部分工作。

自然枯萎病土和人工枯萎病土接种 *Fm* 麦粒砂为处理,以接种无菌麦粒砂为对照。接种期为播前接种和棉苗 2—3 片真叶期接种,前者按盆土重 1% 的 *Fm* (处理)或无菌(对照)麦粒砂量,土壤接种;后者以盆钵 0—10 cm 深土重 0.1% 的 *Fm* (处理)或无菌(对照)麦粒砂量,加水稀释(麦粒砂 1 份:水 80 份)后,灌根接种。各处理重复 10 盆,对照重复 5 盆,共计 60 盆。

② 小区试验:本试验分别在本所、永济和夏县三地的棉花枯萎病重病田进行。棉苗 2—3 片真叶期,处理按大田 0—10 cm 深土重 0.1% 的菌粒砂量,将 *Fm* 麦粒砂培养物加水(菌粒砂 1 份:水 80 份)稀释后,灌根接种;对照接无菌麦粒砂稀释液,无菌麦粒砂用量及稀释液浓度与处理中的 *Fm* 麦粒砂量和加水量相等。试验采取随机区组设计,重复 3 次,小区面积为  $10 \times 2.5 \text{ m}^2$ 。

2. 自然交互保护:棉苗根病系复合性病害,主要病原菌为棉苗立枯病菌 *Rhizoctonia solani*,棉苗红腐病菌 *Fusarium moniliforme* 和 *Glomerella gossypii*,其中以茄丝核菌(*R. solani*,所致棉苗根病为“立枯病”)的生活势能力强,它不仅干扰 *Fm* 在棉株上的定殖,又可造成棉花大量立枯病死苗。根据五氯硝基(Terracior)是防治棉花立枯病的特效药剂,镰刀菌对五氯硝基苯又存在自然抗药性<sup>[4]</sup>。本试验采用五氯硝基苯拌种,一方面抑制立枯病菌的生长,一方面促进自然 *Fm* 的生长,使之减轻棉花枯萎病。

本试验在上述三地区的枯萎病重病田进行。用五氯硝基苯拌种(用药量为种子量的 1%),以不用药剂拌种的为对照。试验设计采用大区试验,对比排列,大区面积为  $330 \text{ m}^2$ 。

3. *Fm* 不同接种水平与棉苗红腐病(致病菌为 *F. moniliforme*)发生程度的关系:按盆钵 0—10 cm 深土重 5, 10, 20, 50 和 100% 五个菌量水平,将 *Fm* 麦粒砂培养物同自然枯萎病土盆钵 0—10 cm 深的土壤均匀混合,在正常播种期播种棉花为处理,每个处理重复 5 盆,

共计 25 盆;供试自然枯萎病土直接播种棉花为对照,重复 5 盆。

#### 4. *Fm* 与 *Fo* 之间的相互作用:

(1) 不同接种时间下的相互作用:① *Fo* 对 *Fm* 的作用:培养皿四周先接种 *Fo*,之后,分别在 24 ( $I_1$ )、48 ( $I_2$ ) 和 72 ( $I_3$ ) 小时,在皿中央等量接种 *Fm* 作处理;皿中央单接 *Fm* 作对照 ( $I_{4k}$ ),接种时间与 ( $I_1$ ) 处理同时。② *Fm* 对 *Fo* 的作用:在培养皿四周先接种 *Fm*,然后,分别在 24 ( $II_1$ )、48 ( $II_2$ ) 和 72 ( $II_3$ ) 小时,在皿中央等量接种 *Fo* 为处理;皿中央单接 *Fo* 为对照,接种时间与 ( $II_1$ ) 处理同时。以上各种处理和对照均重复 5 皿。

#### (2) 不同接种数量下的相互作用:

分别取相同浓度的 *Fm* 和 *Fo* 菌悬液各 0.12 ml (1:1);*Fm* 0.24 ml 和 *Fo* 0.12 ml (2:1);*Fm* 0.12 ml 和 *Fo* 0.24 ml (1:2),充分混合后,分别涂于培养基上;再取两种菌悬液各 0.12 ml,分别涂于同一培养皿的中心线两侧为处理;取两种菌悬液各 0.12 ml,单独涂于培养基上作对照。

5. 观察和记载:对枯萎病调查,自棉苗开始发病之日起,每隔 5 天 1 次,逐株记载,分级登记病情,直至发病停止。最后统计各处理的发病率和病情指数,并计算试验处理的相对防病效果。对棉苗红腐病和立枯病的调查,棉苗出土后,每隔 5 天 1 次,系统记载各处理的根病死苗数,发病高峰期(一般在棉花定苗之前),盆栽试验每盆拔取 10 株,小区和大区试验每区拔取 100 株棉苗,检查其根病种类、病情级别,最后统计发病株率、死苗率和病情指数。室内试验,当各处理的菌落停止扩展时,分别测量其菌落直径,数据分析采用 Duncan's 新复极差法。

## 试验结果

### (一) 人工交互保护盆栽试验结果(表 1)

除人工枯萎病土接种 *Fm* 的交互保护作用效果不明显外,自然枯萎病土盆钵试验的交互保护作用均达到显著的效果。小区试验也取

得了一致的结果，如夏县和永济两个试验点的相对防病效果依次达 32.3% 和 41.7%，而且棉苗生长无异常变化。

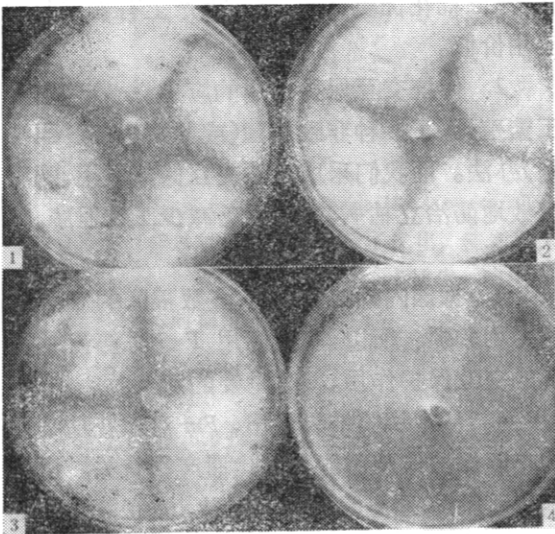


图 1 不同接种时间下棉花枯萎病菌对串珠镰刀菌的作用  
1. 24 小时；2. 48 小时；3. 72 小时；4. 对照 (1ck)

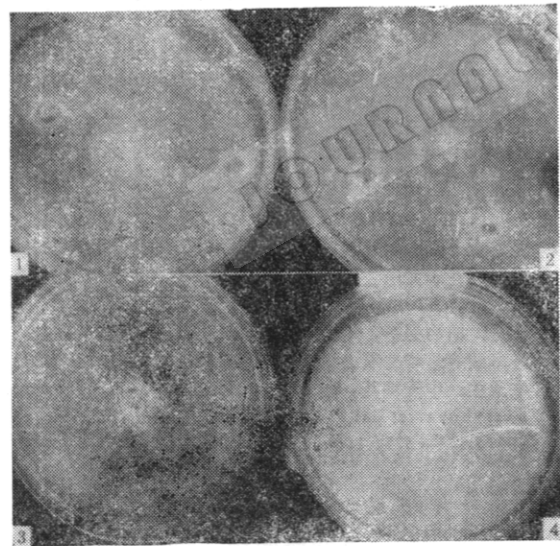


图 2 不同接种时间下串珠镰刀菌对棉花枯萎病菌的作用  
1. 24 小时；2. 48 小时；3. 72 小时；4. 对照

(二) 自然交互保护试验结果

棉花播前经五氯硝基苯拌种后，减轻了立枯病发生，激发了自然 *Fm* 活性，进而对棉花

表 1 串珠镰刀菌对棉花枯萎病交互保护作用盆栽试验结果

处理内容			发病株率 (%)	病情指数	相对防病效果 (%)
人工棉花枯萎病土	播种期接种 <i>Fm</i>	处 理	85.0	84.2	2.1
		对 照	86.4	86.0	—
	棉苗 2—3 片真叶期接种 <i>Fm</i>	处 理	89.2	88.6	—43.8
		对 照	62.4	61.6	—
自然棉花枯萎病土	播种期接种 <i>Fm</i>	处 理	10.0	9.4	81.5
		对 照	50.8	50.8	—
	棉苗 2—3 片真叶期接种 <i>Fm</i>	处 理	17.6	17.6	71.1
		对 照	60.8	60.8	—

枯萎病产生了交互保护作用。据多地试验结果，处理的立枯病发病率和病情指数比对照的低 37.8 和 25.7%；处理的红腐病发病率和病情指数比对照的高 26.7% 和 17.6%；对枯萎病的平均防病效果为 13.4%。从试验结果还观察到，处理的红腐病情虽有所增高，但都未出现死苗，而且生长发育正常。

(三) *Fm* 不同接种水平与棉苗红腐病发生程度的关系(表 2)

红腐病情并不因 *Fm* 接种数量的增加而明显加重。相反，随着 *Fm* 接种数量的提高，棉花枯萎病则表现减轻的趋势。由此进一步说明，*Fm* 致病力极弱，在用它对枯萎病产生交互保护作用的同时，不会出现红腐病大量死苗和影响棉花生育进程的现象。

表 2 *Fm* 不同接种水平与棉苗红腐病发生程度的关系

<i>Fm</i> 接菌量*(%)	棉苗红腐病			棉花枯萎病	
	发病株率 (%)	死苗株率 (%)	病 情 指 数	发病株率 (%)	病情指数
5	100	0	62.5	57.9	57.9
10	100	0	63.5	57.0	57.0
20	100	0	54.0	50.5	48.4
50	100	0	55.3	14.5	13.0
100	100	0	66.7	10.1	10.1
空白对照	100	0	65.3	59.0	57.9

\* 盆钵 0—10 cm 深土重的接菌比例。

#### (四) *Fm* 与 *Fo* 相互作用观察结果

在不同接种时间下,二者之间具有互为抑制的作用(图 1, 2),抑制力强弱取决于第 1 种菌接种后,第 2 种菌间隔接种时间的迟早,间隔时间越长,第 1 种菌对第 2 种菌的抑制力越大,反之则越小(表 3)。由表 3 数据可知,第 1 种菌对第 2 种菌的抑制力大小与其菌落扩展量关系不密切,很可能与它的代谢产物多少有关。在不同接种数量条件下,除 *Fm* 和 *Fo* 以 1:1 分开接种,在培养皿中心产生明显的拮抗带外,其余等量和倍量混合接种的 3 种处理,均长出单一的 *Fm*,而对照的两种菌生长正常。说明 *Fm* 和 *Fo* 混合生长时,前者对后者的生长具有强烈的抑制力。

表 3 不同接种时间下 *Fm* 与 *Fo* 相互作用观察结果

处 理	<i>Fm</i> 菌落直径 (cm)	<i>Fo</i> 菌落直径 (cm)
I <sub>1</sub>	1.94 <sup>A</sup>	*3.48 <sup>A</sup>
I <sub>2</sub>	0.97 <sup>B</sup>	*3.73 <sup>A</sup>
I <sub>3</sub>	0.50 <sup>C</sup>	*3.59 <sup>A</sup>
I <sub>ck</sub>	5.57 <sup>D</sup>	
II <sub>1</sub>	*3.51 <sup>A</sup>	2.17 <sup>A</sup>
II <sub>2</sub>	*3.68 <sup>A</sup>	1.52 <sup>B</sup>
II <sub>3</sub>	*3.58 <sup>A</sup>	0.50 <sup>C</sup>
II <sub>ck</sub>		5.97 <sup>D</sup>

\* 培养皿周围 4 个菌落直径的平均值。在同一处理同一列数据中,右上角标有相同字母的数据表示它们之间差异不显著 ( $\alpha = 0.01$ )

综合看来, *Fm* 侵染时间早,生活势能强,从而对棉花枯萎病有着交互保护作用。

## 讨 论

1. 根据上述试验结果,我们进一步研究<sup>[1]</sup>,

将 *Fm* 自然交互保护作用同丰产优质性较好的中抗(枯萎病)品种结合起来,通过它们之间的协效作用,可以有效地控制棉花枯萎病和立枯病,保证棉花优质高产,这在生产上有着重要的应用价值。

2. 传统交互保护作用的应用,一般采取人工繁殖,人工接种非致病菌(或弱致病菌、弱株系)办法。而我们采取自然交互保护作用,既可有效地防治立枯病,又可显著减少工作程序,减少投资。

3. 据国内外报道<sup>[2,3,6]</sup>,多数棉区的 *Fm* 致病力均较弱。所以,广泛应用 *Fm* 对棉花枯萎病的交互保护作用,将有重要的意义。

4. 从本试验结果看出, *Fm* 对棉花枯萎病的交互保护作用可能与其代谢产物有关。肖建国等试验<sup>[1]</sup>,用赤霉素 A<sub>3</sub> 浸种,能有效地防棉花枯萎病。Kertykova 等证明,类赤霉素等物质可以使棉花的细胞变小,密度增高,通过形成一个生物屏障 (Biological barrier) 提高棉花的抗病性<sup>[7]</sup>。所以, *Fm* 对棉花枯萎病的交互保护作用,有无类似机理,尚待进一步研究。

## 参 考 文 献

1. 肖建国: 中国棉花病害及其综合防治, 农业出版社, p.366, 1984。
2. 张卓敏等: 山西农业科学, 9:20—22, 1982。
3. 中国棉花研究所主编: 中国棉花栽培学, 上海科学技术出版社, p.624, 1983。
4. 李进: 植物保护, 6(6): 27, 1980。
5. 张卓敏等: 华北农业学报, 3(3): 67—72, 1989。
6. 牛玉兰: 中国棉花, 6: 39—42, 1985。
7. Kertykova et al.: Review of Plant Pathology, 65(7):374—375, 1986。