

北疆棉花苗期病害拮抗菌 7B-1 的研究

张亚平¹, 李国英², 阎小雪²

(¹ 石河子大学新疆作物高产研究中心; ² 石河子大学农学院, 石河子 832003)

摘要:从北疆棉花根际土壤中采集土样 36 份,经室内分离、纯化后获得生长数量占优势的细菌菌株 84 个,对棉花立枯病的病原菌进行平板对峙培养法拮抗测定,共筛选出 28 个有拮抗活性的细菌菌株,对其进行筛选、比较后,选出拮抗活性较强的 3 个细菌菌株进行盆栽试验和棉花苗期病害的田间小区防治试验,最后确定了 7B-1 拮抗细菌菌株。在此基础上研究了芽孢杆菌 7B-1 对新疆棉苗病害强致病菌株 R₁₀₅ 的拮抗作用机制,结果表明,7B-1 能引起 R₁₀₅ 菌丝溶解和畸形,其代谢物对 R₁₀₅ 的菌丝生长有抑制作用。

关键词:棉花;7B-1 拮抗菌;丝核菌;新疆

Study of Antibiotic Bacterium 7B-1 on Cotton Seedling Diseases in Xinjiang

ZHANG Ya-ping¹, LI Guo-ying², YAN Xiao-xue²

(¹ Research Center of Xinjiang Crop High-Yield;

² College of Agricultural, Shihezi University, Shihezi 832003)

Abstract: 36 soil samples were collected from the rhizosphere of cotton in Shihezi locations, and 84 bacteria strains with the well growth were obtained by the isolation and purification of Lab. By the test experiment in plate to their antagonistic activity against cotton *Rhizoctonia solani*, 28 bacteria strains with the antagonistic activity were found, 3 strains with the strong antagonistic activity were selected from the 28 strains, and used in the small farm experiments of the basin growing and the seedling term disease of cotton. As a result, 7B-1 has the very strong antagonistic activity. From the study that biocontrol *Bacillus* spp. 7B-1 antagonize R₁₀₅-strong pathogen of cotton seedling diseases in Xinjiang, we obtain the result that 7B-1 can result in the melting and deforming of R₁₀₅ mycelium, and the metabolize products of 7B-1 restrains the growth of R₁₀₅ mycelium.

Key words: Cotton; 7B-1 antagonistic microorganism; *Rhizoctonia solani*; Xinjiang

丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起的棉花立枯病是新疆棉区重要的棉花苗期病害之一,为了探索一条生物防治途径,1996~2000年从不同棉田采集土样,从中筛选和确定出了对棉花立枯病有拮抗作用的 7B-1 菌株,并研究了其对新疆棉花苗期主要致病菌立枯丝核菌 R₁₀₅ 的作用机理。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试丝核菌 从北疆石河子南山分离的供

试菌(石南)和 R₁₀₅(*R. solani*)由石河子大学农学院植病室提供。

1.1.2 待测菌株 采集棉田中棉花根际土样36份,装入灭菌纸袋,用新鲜的标本进行分析。

1.1.3 培养基 采用牛肉膏蛋白胨培养基,PDA培养基,NB培养液(含 CaCO₃ 0.5%)。

1.2 试验方法

1.2.1 拮抗菌的初筛 将采集的土样采用稀释平板计数法获得土壤中主要细菌类群,挑取平皿中占优势的菌落于试管中纯化,共计 84 个。将丝核菌接

收稿日期:2000-02-08

基金项目:国家“九五”攻关科研课题(95-03-02-01)北疆棉区病虫害综合防治实施

作者简介:张亚平(1964-),女,安徽五河人,副教授,在读硕士,主要从事微生物学方面的研究。Tel:0993-2058500,0993-2395387;E-mail:yaping1112@x.263.net

种于平板中央,沿四周接种挑取的优势细菌菌株 4 个,在 28℃下培养 72h 以后,观察各菌株对 5 个供试丝核菌的抑菌情况,初步筛选出细菌菌株 28 个。

1.2.2 拮抗力的测定 用对峙培养法,在 PDA+土壤浸出液+0.5%蛋白胨平板中央接种丝核菌,对称接种初筛的拮抗菌,培养 3d 后,测量抑菌圈的大小。

1.2.3 拮抗菌的控病作用 从筛选的具有显著抑制效果的拮抗菌中选出 3 个细菌菌株进行液体培养。供试的拮抗菌培养液含菌数: $6 \sim 7 \times 10^8$ 个/ml,用之浸种 4h,然后播种到接有丝核菌为 0.1%、0.5%、1%、5% 的灭菌土中,以无菌水浸种作对照,以播种 10 粒棉种为一个重复,重复 5 次,出苗 1 周后观察发病情况,计算出控病效果。

1.2.4 拮抗细菌代谢物抗生活性测定 将拮抗细菌接种到 NB 培养液中,28℃振荡培养 72 h 后,6 000r/min 离心 20 min。取上清液,经细菌过滤器过滤,即得到含有拮抗细菌代谢物的提取液。采用 2 种方法测定其提取液的抗生活性。第 1 种是在 PDA 平板上呈对角线打 4 个直径为 5 mm 的孔,然后滴入拮抗细菌代谢物提取液 50 μ l,在平板中央移入 5 mm 直径丝核菌菌块;第 2 种是采用滤纸法,将拮抗细菌代谢物的提取液滴在 5 mm 滤纸上,然后放在 PDA 平板上,在 28℃下培养 3~7d,观察并测量抑菌圈直径。每个处理重复 3 次。

1.2.5 小区试验 试验在植病温室进行。每个处理设 3 次重复随机设计,小区面积 72 m²。在 1997~1998 年,以清水为对照,立枯丝核菌的接种量为

50~60 g/m(窄膜);用 3 种拮抗菌菌悬液分别浸种 4~6h。在 1999~2000 年,将 7B-1 按芽孢杆菌水分散性微粒剂生产工艺方法制成粉剂,使其含菌量 $\geq 10^9$ cfa/g,按种子量的 1%称取粉剂拌种,粉剂在种子表面接种量为 10^6 cfa/粒,稍后播种。播种 7d 后开始调查,随机取样,每 3d 调查 1 次,最后累计出苗率和保苗效果。在苗期病害高峰期,记载感病指数,计算防效并测产。分级标准:0 级-健苗;1 级-茎基、根部局部有病斑;2 级-1/3~1/2 的茎基、根部出现病斑;3 级-1/2~2/3 的茎基、根部出现病斑;4 级-枯死。

2 结果与分析

2.1 不同根际土壤中拮抗细菌分离的群体率

从表 1 可以看出,一般健株根际土壤中的拮抗细菌较高,占 39.28%,这可能就是病田中健株不发病的一个重要原因之一。初步看出,拮抗菌的存在及其数量与棉田发病情况有较密切的关系。

2.2 拮抗菌株的抑菌类型

从获得的 84 个优势菌株中筛选出有拮抗作用的细菌 28 个。从表 2 可以看出,不同菌株的抑菌活性强弱有所不同,可以分为 3 类:抑菌活性强(3 级)。以 7B-1 为代表,共计 8 株,占 28.57%;抑菌活性较强(2 级)。共计 7 株,占 25%;抑菌活性较弱(1 级)。共计 13 株,占 46.43%。由此看出,在自然环境中存在着对棉苗立枯丝核菌具有较强拮抗作用的细菌。

表 1 不同根际土壤中拮抗细菌分离的群体率

Table 1 The crowd rate of antagonism bacteria in the different rhizospheric soils

土样范围 Soil samples	优势菌数(个) No. of vantage	拮抗菌数(个) No. of antagonism	拮抗菌比例 Antagonism bacteria(%)
健株根际 Well-being plants rhizosphere	28	11	39.28
病株根际 Disease plants rhizosphere	28	6	23.15
膜间土壤 Between membrane	28	9	32.14

表 2 28 个拮抗菌对棉花立枯病的抑制活性¹⁾

Table 2 The inhibition vitality of twenty-eight rhizospheric antagonism bacteria on *Rhizoctonia solani*

级别 Classes	1	2	3
28 个拮抗菌 Bacteria No.28	2B2 3B1 6B2 6B3 16B2 21 B2 22B1 23B 24B1 26B1 34B1 21 B1 25B1	1 B1 1 B2 2B2 9B1 25B2 26B1 36B2	5B1(4 cm) 7B1(4~6.5 cm) 9B2(4~5 cm) 13B1(4~5 cm) 33B(4 cm) 14B1(3~4 cm) 18B1(3~4 cm) 18B2(3~4 cm)

¹⁾ 1: SIZ < 1 cm; 2: SIZ 为 1~3 cm; 3: SIZ > 3 cm

2.3 不同类群拮抗菌的培养液浸种对棉苗立枯病的防治效果

从表 3 和表 4 看出,致病菌含量不同的土壤,在接种量为 0.1%~1%的土壤中,随接种量的减

小,抑菌效果随之增加,且在 5%的接种土壤中,用 7B-1 浸种的棉苗成活率为 2%,这说明细菌对棉苗立枯病具有一定的防治效果。与平皿对峙测定比较,皿测与盆内灭菌土接种试验基本一致。

表 3 拮抗细菌防治棉花苗病盆栽试验

Table 3 The experiment result of antibacterium to control the seedling disease of cotton by pot plant

处理 Treat ment	0.1 %		0.5 %		1 %		5 %	
	发病率 Incidence(%)	抑菌率 Suppress(%)	发病率 Incidence(%)	抑菌率 Suppress(%)	发病率 Incidence(%)	抑菌率 Suppress(%)	发病率 Incidence(%)	成活率 Life(%)
7B-1	32.8	36.56	43.8	36.15	81.6	12.54	100	2
9B-2	19.4	62.48	61.1	10.93	91.2	2.25	100	-
13-BI	10.7	79.30	57.1	16.76	68.0	27.12	100	4
无菌水(CK)	51.7	-	68.6	-	93.3	-	100	-

表 4 拮抗细菌防治棉花苗病盆栽试验

Table 4 The experiment result of antibacterium to control the seedling disease of cotton by pot plant

处理 Treat ment	死亡率 Death(%)	发病率 Incidence(%)	感病指数 Susceptibility index	防效 Control effect(%)
7B-1	60.0	95.0	74.2	18.0
清水(CK)	76.7	100	90.5	-
健康 Well-being	36.7	36.7	36.7	

2.4 拮抗菌拌种后的出苗、病害发生情况、防病效果

从表 5 可以看出,拮抗菌处理棉种后,出苗率不高,其主要原因是因播种后遇到长期的低温和冻害

以及接种量过大导致严重发病。但在同一水平下,7B-1 的出苗率高于 CK,发病率和病情指数也低于 CK,基本上与保苗效果相一致。通过测产,7B-1 有增产作用。

表 5 7B-1 拮抗菌拌种防治棉花苗期病害的防治结果(2000 年)

Table 5 The control effect of 7BI treatment to restrain the cotton seedling diseases

处理 Treat ment	出苗率 Seedling(%)	死亡率 Death(%)	发病率 Incidence(%)	感病指数 Susceptibility index		防效 Control effect(%)	
				5 月 May	6 月 June	5 月 May	6 月 June
7B-1	63.6	52.1	69.3	65.1	33.1	27.7	63.7
清水(CK)	50.6	70.2	100	90.0	91.3	-	-

2.5 7B-1 拮抗菌对 R₁₀₅ 的拮抗作用

2.5.1 7B-1 拮抗菌对 R₁₀₅ 的拮抗性测定 结果表明,该细菌菌株对 R₁₀₅ 有抑制作用。拮抗细菌对 R₁₀₅ 有致畸、溶菌作用。

2.5.2 7B-1 拮抗细菌代谢物对 R₁₀₅ 的抗生作用 在代谢物周围 R₁₀₅ 的菌丝不能生长,有条较宽的抑菌圈。两种方法其抑菌圈大小范围在 3~5.4 mm。由此说明,拮抗细菌代谢物对 R₁₀₅ 的菌丝生长有明显抑制作用。

3 讨论

针对棉苗立枯病的病原菌筛选出的 7B-1 拮抗菌,其菌体本身和代谢物抗生作用表明,该菌对丝核菌有致畸、溶菌作用。由此说明,通过室内拮抗平皿筛选、盆栽试验、小区试验而获得具有一定稳定性的生物菌剂和其代谢产物制剂可以作为一条可行的生物防治途径进行利用。新疆棉区长期低温或干旱等不利于棉苗生长和拮抗菌定植的气候因子,使棉苗

抵抗力和拮抗菌的拮抗作用下降而影响防效。因此,如何提高菌株生长繁殖速度和产生抗菌物质的能力,找出在自然条件下影响拮抗菌拮抗作用不稳定的制约因子,将是今后需要深入探讨的重要工作。

References

- [1] Fang Z D. Study Way of Plant Pathology. Beijing: Agricultural Press, 1979. (in Chinese)
方中达. 植病研究方法. 北京: 农业出版社, 1979.
- [2] Zhang Y P, Li G Y. Study on antagonism of cotton *Rhizoctonia solani* by cotton rhizospheric microorganism. *Journal of Shihezi University*, 1998, 2(1): 8 - 11. (in Chinese)
张亚平, 李国英. 北疆棉花根际微生物对棉花立枯病拮抗作用的研究. 石河子大学学报, 1998, 2(1): 8 - 11.
- [3] Jiao Z, Lu B S, Shi B J. Fungistatic effect of *Trichoderma koningii* with special reference to the fungus *Rhizoctonia solani*. *Chinese Journal of Biological Control*, 1995, 11(3): 122 - 124. (in Chinese)
焦 琼, 路炳声, 史步娟. 康氏木霉抑菌物质的抑菌效果. 中国生物防治, 1995, 11(3): 122 - 124.

BIO CHINA 2002

中国国际生物创新项目成果交易洽谈会

生物技术作为现代科技的一个重要组成部分,必将在刚刚起步的 21 世纪得到迅猛发展,生物技术的发展和应用将掀起一场新的工业革命。为进一步加快生物科技成果项目转化的步伐,我们将在 2002 年 8 月 28 - 31 日在北京京伦饭店举办本次洽谈会。

本次洽谈会集展览、论坛、项目发布、成果交易、新产品演示于一体,涉及生物技术产业及其在农业、医疗、工业与环境等方面,提供的生物科研成果均代表了我国最前沿的生物技术水平。大会将设生物产业洽谈专场、生物技术洽谈专场、生物发展洽谈专场、生物资源洽谈专场、生物信息洽谈专场、药厂 CEO 论坛、投资机构 CEO 论坛……。

通过参加此次洽谈会可以深入了解到目前生物技术领域的最新研究成果和投资机会,并有机会和该领域内的专家进行面对面的交流,找到适合自己的投资机会和商机,这无论对于寻找项目或是对具体项目进行融资都是一个很好的途径,并且通过参加此次洽谈会可迅速的提高贵公司(机构)在行业内的知名度。因此,我们诚邀您参加本次洽谈会。

中国国际生物创新项目成果交易洽谈会组委会

联系电话:010-51026291 51026293 51026290 传真:010-51026290

E-mail: genefax@263.net <http://www.genefax.com>

户 名:中国国际生物创新项目成果交易洽谈会

开 户 行:广东发展银行北京分行建国路支行

账 号:78651601046179

《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》(CDMD)总体介绍

1、简介

CDMD覆盖理工、农林、医卫、社会科学各学科,精选收录全国近300家博士授予单位,2000-2001年的论文全文近30000册,其中“211工程”高校的收录率达80%。CDMD按学科划分为9大专辑出版,今后,每年增加论文全文20000册。

2、专辑清单

代码	专辑名称	专辑光盘	学科范围
M-A	理工辑 A(数理科学)	半年刊	数学 力学 物理 生物 天文 地理、测绘、资源 气象、水文、海洋 地质 地球物理学
M-B	理工辑 B(化学化工能源与材料)	半年刊	化学 化工 矿冶 石油 天然气 金属及金属工艺 煤炭 轻工 劳动保护 环境 材料
M-C	理工辑 C(工业技术)	半年刊	工业通用技术及设备 机械 仪表 航空 航天 交通运输 水利工程 农业工程 建筑工程 动力 原子能技术 电工技术
M-D	农业辑	半年刊	农业基础科学 农艺学 植保 农作物 园艺 林业 畜牧、动物医学 狩猎、蚕蜂 水产、渔业
M-E	医药卫生辑	半年刊	预防医学与卫生学 基础医学 临床医学 中医、中药 药理学 生物医学工程
M-F	文史哲辑	半年刊	文学 艺术 旅游 历史 哲学 宗教 体育 人物传记
M-G	经济政治与法律辑	半年刊	经济学 商贸 金融 保险 政论 党建 外交 军事 法律
M-H	教育与社会科学综合辑	半年刊	社会科学研究方法 社会学 民族学 人口学 人才学 各级各类教育
J-I	电子技术与信息科学辑	半年刊	无线电 计算机 自动化 新闻与传媒 图书情报 档案

3、出版背景

我国在博硕士论文的收集、整理、开发方面已取得了积极的成果,但远不能满足国家信息化建设的要求。CDMD的建设是在国家信息化建设战略方针的大框架下进行的,实行全面规划、统一标准、规模建库、资源共享。

4、用途

- 1)发展高等教育、特别是研究生教育事业,培养高层次科技人才;
- 2)推进科技工作人员之间的学术交流,促进学科建设和科研工作;
- 3)建设国家基础知识设施和国家创新体系。

5、检索系统

- 1)提供CNKI知识仓库分类导航与学科专业导航两套导航检索系统;
- 2)提供关键词、中文题名、副题名、中文摘要、作者姓名、导师、全文、引文等基本检索功能;
- 3)提供初级检索与高级检索两套检索界面,支持二次检索、多种逻辑组合检索等专业检索功能;
- 4)提供中文简体、中文繁体 and 英文检索三种检索界面,支持中英文对照和中文简繁对照检索;
- 5)提供论文全文的在线浏览、全文下载、保存、打印等功能,提供摘录功能。

6、使用方式

- 1)网上包库服务(WEB方式):读者直接登录CNKI数据库交换服务中心网站(全国共有10个)进行检索;
- 2)镜像站点方式:将CDMD数据库系统安装到用户单位的内部网络服务器上,读者在内部网上进行检索;
- 3)全文光盘方式:将CDMD全文光盘(DVD格式)安装在本单位的计算机或局域网上使用。

7、更新周期

CNKI数据库交换服务中心网站数据每日更新,镜像站点通过互联网或卫星每日更新,光盘每半年出版一期。

8、软件环境

用户端:Window 95/98/ME/2000/NT/XP 服务器端:Window 2000/NT/XP

全国免费咨询热线:8008100946

地址:北京清华大学毕业大厦1300室 通信地址:北京清华大学84-48信箱 邮编:100084

联系人:张莉 联系电话:010-62791829/30/31 E-mail:qklw@cnki.net

详情请访问:CNKI电信全国中心 <http://www.cnki.net/> CNKI教育全国中心 <http://www.edu.cnki.net/>

中国学术期刊(光盘版)电子杂志社 清华同方光盘股份有限公司 光盘国家工程研究中心