



滴施生物药剂对棉花生长、黄萎病防治及土壤微生物数量的影响

吕 宁^{1,2}, 周光海¹, 陈 云³, 石 磊³, 李全胜⁴, 张国丽⁴

(1. 新疆农垦科学院, 新疆石河子 832000; 2. 新疆石河子大学, 经济与管理学院, 新疆石河子 832003; 3. 新疆农垦科学院, 农田水利与土壤肥料研究所, 新疆石河子 832000; 4. 新疆农垦科学院 生物技术研究所, 新疆石河子 832000)

摘 要 设置田间小区试验, 开展枯草芽孢杆菌粉剂(15.0、30.0 和 45.0 kg/hm²)、“施倍健”哈茨木霉菌剂(15.0、18.0 和 24.0 kg/hm²)和渝峰“99 植保”(15.0、22.5 和 30.0 kg/hm²)不同的滴施用量对棉花黄萎病、生长发育及棉田土壤微生物数量的影响研究。结果显示:(1) 3 种施药处理均不同程度降低棉花黄萎病发病率和病指, 防病效果随着枯草芽孢杆菌剂施药量的增加而显著提高; 木霉菌剂施药量 18.0 kg/hm² 防效显著高于 15.0 和 24.0 kg/hm², 全生育期达到 61.86%; “99 植保”不同的用量处理平均防效达到 72.46%, 但 22.5 和 30.0 kg/hm² 防效增幅差异不大。(2) 3 种施药处理对棉花生长表现一定的促进作用, 棉花的株高、果枝数和蕾铃数随枯草芽孢杆菌剂施药量增加显著增加; 木霉菌剂、“99 植保”施药量的增加对株高影响不大, 但果枝数和蕾铃数基本上随施药量增加而增加, 中、高施药量之间的结蕾数差异较小。(3) 3 种药剂滴施后对棉田根际土壤微生物菌群结构具有显著影响, 细菌数量均随施药量的增加而增加; 枯草芽孢杆菌剂和“99 植保”处理后放线菌数量表现为随施药量的增加而增加, 而真菌数量随施药量增加依次降低, 木霉菌剂施药量 18.0 kg/hm² 的放线菌数量高出 15.0 和 24.0 kg/hm² 近 2 倍。综合棉花防病效果及生长表现, “99 植保”滴施用量建议 22.5 kg/hm²、木霉菌剂 18.0 kg/hm²、枯草芽孢杆菌 45.0 kg/hm²。

关键词 生物药剂; 随水滴施; 棉花; 黄萎病防治; 促生作用; 土壤微生物数量

中图分类号 S43; S476

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2018)07-1056-09

新疆是中国最大的适宜种植棉花的区域。据统计, 新疆棉花总产量占全国的 33%^[1]。棉花是新疆的重要经济作物, 棉花产值占全疆农业总产值的 45%, 棉花产业在新疆的经济生产中占有举足轻重的地位^[2-3]。但是由于连年种植、不合理的施用化肥, 以及高密度覆膜栽培等, 新疆棉区黄萎病害日趋严重。据不完全统计, 每年由于“两萎”病害造成的经济损失达到 15% 左右^[4], 成为当前制约新疆棉花可持续生产的主要障碍因素。

长期以来棉花黄萎病防治主要依赖化学药剂, 大量使用化学杀菌剂带来严重的环境污染和药品残留问题^[5-6]。生物农药是利用有益微生物活体或微生物代谢产物进行植病防治的一类药剂, 主要包括拮抗微生物菌剂、植物源农药、植物生长调节剂、抗生素农药等^[7-8], 具有易降解、生态

安全、改善土壤环境等优点, 因此成为植病防治中的新途径。有关棉花黄萎病的生物防治, 目前集中在功能菌生防因子的筛选、作用机理及生物制剂的研究开发^[9-13]方面, 施药方式主要是喷施、拌种和灌根^[14]。棉花黄萎病是典型的土传病害, 利用滴灌管道可将药剂直接随水施入棉花根部, 实现药剂的可控、均匀和靶向施入, 对土壤病原菌起到更为直接的抑制作用^[15-16]。新疆地区 90% 以上棉田均采用滴灌模式^[17], 开展随水施药技术研究十分必要。一些植保学者陆续开展生物菌剂随水滴施防治棉花黄萎病的药效试验^[18-22], 姜善伟等^[19]提出每公顷滴施枯草芽孢杆菌 9 kg 防效显著提高, 刘政等^[20]研究发现每公顷滴施木霉菌厚垣孢子制剂 60 kg, 对棉花黄萎病防效可达到 57.81%。不同的植棉区, 因气候因素、土壤理化

收稿日期: 2017-04-20 修回日期: 2017-09-28

基金项目: 国家重点研发计划(2016yfd02004005-4); 兵团现代农业科技攻关(2015AC008); 兵团科技攻关与成果转化计划(2016AD029)。

第一作者: 吕 宁, 女, 助理研究员, 博士研究生, 主要从事植物营养与生物菌肥研究。E-mail: lvning20030118@163.com

通信作者: 陈 云, 男, 研究员, 主要从事微生物肥料研究。E-mail: Nkyecy8216@163.com

性质及种植品种的不同,不同的生物药剂的施用量存在显著差异。已有报道中在滴施用量、滴施时间方面缺乏梯度设计,因此尚未有一致性结论;另外,生物药剂滴施后必然会引起土壤微生物菌群变化,但具体的影响效应尚不明确。

本研究设置施药量梯度试验,于 2015—2016 年开展 3 种不同生物药剂随水滴施防治棉花黄萎病的试验研究,通过调查各生育期棉花生长性状,统计棉田黄萎病发病率和防效,测定分析施药后土壤微生物数量变化,明确 3 种生物药剂合理的

滴施用量,旨在为科学使用生物药剂和滴灌施药技术防治棉花黄萎病提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

2016 年,试验地点设在新疆农垦科学院 3 轮 5 号试验地。该试验地连续种植棉花 5 a,属黄萎病发病中等偏重地块。土壤类型、质地及主要理化性状见表 1。

表 1 试验点基本情况

Table 1 Physical and chemical properties of tested soils

土壤类型 Soil type	质地 Soil texture	土层/cm Soil layers	有机质/(g/kg) Organic matter	碱解氮/(mg/kg) Alkaline hydrolysis nitrogen	速效磷/ (mg/kg) Available P	速效钾/(mg/kg) Available K	pH
灰漠土 Gray desert soil	中壤 Medium loam	0 ~ 40	13.15	88.55	9.01	210.85	8.35

1.2 供试材料

1.2.1 供试药剂 枯草芽孢杆菌可湿性粉剂 (*Bacillus subtilis* agent, 由河北农科院提供, 功能菌为枯草芽孢杆菌、侧孢芽孢杆菌, 10 亿个活芽孢菌/g); “施倍健”哈茨木霉菌剂 (*Trichoderma humatum* agent, 主要菌种: 木霉菌, 哈氏木霉厚垣孢子 ≥ 2.0 亿/g, 海南金雨丰生物工程有限公司生产); 渝峰“99 植保”(重庆市联普农业发展股份有限公司生产, 主要成分: 铜、铁、锌、锰、硼、钼等微量元素, 以及氨基酸和有机活性物质)。

1.2.2 供试棉花品种 ‘新陆早 60’, 由新疆农垦科学院棉花研究所选育。该品种具有早熟、丰产及抗逆性较好等特点。

1.3 试验设计

田间试验采取裂区设计。设置 4 个主处理(3 种药剂+清水对照), 每种药剂的 3 个施药量为副处理, 重复 3 次, 随机排列。主区面积为 667 m², 副区面积 6.15 m² (2.05 m × 3.00 m)。

根据不同药剂有效成分含量、推荐使用剂量及试验地棉花黄萎病的发病表现, 每种药剂设置 3 个施药量水平。枯草芽孢杆菌可湿粉剂, 记为 T1 处理, 3 个施药量分别为 15.0 kg/hm²、30.0 kg/hm²、45.0 kg/hm²; “施倍健”哈茨木霉菌剂, 记为 T2 处理, 3 个施药量分别为 15.0 kg/hm²、18.0 kg/hm²、24.0 kg/hm²; 渝峰“99 植保”, 记为 T3 处理, 3 个用药量分别为 15.0 kg/hm²、22.5 kg/hm²、30.0 kg/hm²; 以相邻不施药剂的棉花为对照, 设为处理 T4, 除施药处理外, 其余田管措施

各处理均相同。根据当地黄萎病的发病规律, 在棉花生育前期(6 月 15 日、7 月 10 日)将药剂分 2 次施入, 各滴施 50%。

滴灌施药方式全部采用移动加压滴灌模式, 于滴水结束前约 2 h 内进行, 将药剂加入到滴灌系统的配药箱中, 随水滴入完成施药。试验于棉花发病前期开始施药, 整个生育期滴施 2 次。

1.4 调查指标及方法

1.4.1 棉花生长性状及产量指标调查 记录各处理黄萎病发病的时间。调查各生育阶段棉花株高, 测定各处理棉花的蕾数(直径 ≥ 3 cm 的计数)、果枝台数和有效结铃数。

1.4.2 棉花黄萎病发病率、病指及防效计算 从各处理出现病株起, 开始调查记录棉田发病情况。棉花蕾铃期通过观察病叶、吐絮期通过观察棉秆木质部颜色变化, 统计发病株数, 计算发病率、病指和防治效果。调查记载中按照沈其益 5 级分级标准^[23]表述病情。

发病率 = 发病植株数/全部调查植株数 × 100%, 记作 R_i 。

病情指数 = 发病植株的总病级数/全部调查植株的理论最高总病级数, 记作 D_i 。

防病效果 = (CK 处理病情指数 - 施药处理病情指数)/CK 处理病情指数 × 100%。

1.4.3 土壤微生物数量测定 在棉花吐絮期(9 月 21 日), 采集 0 ~ 15 cm 土层新鲜土样, 采用平板培养法、分离计数法测定土壤微生物数量^[24]。其中, 细菌分离用牛肉膏蛋白胨培养基, 真菌采用

马铃薯培养基,放线菌采用改良高氏一号培养基。称取 5 g 制备好的土壤样品,加入盛有 45 mL 无菌水的三角瓶中,在混匀器上振荡 30 min,即成 10^{-1} 土壤悬浮液。按上述方法依次稀释成 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 的土壤悬浮液。根据分离的微生物种类选用不同稀释度的土壤悬浮液,真菌用 10^{-2} 、细菌用 10^{-4} 、放线菌用 10^{-3} 涂板。真菌、细菌板在 28 ℃ 黑暗中培养 2 d,而放线菌板培养 7 d。记录每皿各种菌的菌落数,直至同类微生物的菌落数不再增加为止。土壤中菌落数的单位为 cfu/g。

1.5 数据处理分析

采用 SPSS 11.5 进行方差分析,并用 Duncan's 法进行差异显著性检验 ($P=0.05$),分析不同施药量处理对棉花株高、结铃数、黄萎病发病率、病指、防效及土壤微生物数量的影响。数据均为 3 次重复的“平均值±标准差”。

2 结果与分析

2.1 不同施药处理对棉花黄萎病的防治效果

通过各生育期棉花黄萎病发病情况的跟踪调查和统计,研究发现,3 种生物药剂滴施后显著降低棉田黄萎病的发病率和病指,不同程度地提高防病效果,每种药剂不同的施药量处理防病效果显著不同(表 2)。

发病率数据显示,棉花蕾期 T1、T2、T3 3 个处理平均发病率分别为 17.44%、17.94%、9.38%,较对照(40.11%)依次降低 56.52%、55.27%、76.61%,降低程度十分显著(P 值分别为 0.001、0.002、0.001)。每种药剂不同施药量处理对发病率的影响,T1 表现出随施药量的增加而显著降低的趋势($P=0.011$);T2 施药量由低到高发病率依次为 20.34%、15.36%、18.11%,施药量 18.0 kg/hm² 发病率显著低于 15.0 kg/hm² 和 24.0 kg/hm² ($P=0.007$);T3 处理 3 个施药量 15.0 kg/hm²、22.5 kg/hm²、30.0 kg/hm² 发病率依次为 12.22%、8.44%、7.49%,随施药量增加发病率呈现降低趋势,但中、高施药量之间差异不大。随着生育期推进,进入棉花花铃期、吐絮期,T1、T2、T3、T4 各处理平均发病率分别为 26.90%、30.88%、20.62%、52.12% 和 35.19%、35.16%、30.94%、58.18%,较蕾期棉田发病明显增加,但与对照相比,施药后均不同程度降低黄萎病发病率,降低效果大小为 T3>T1>

T2,各处理不同施药量之间发病率的变化趋势与棉花蕾期相一致。

病指数分析显示,各生育期 T1、T2、T3 处理病指较对照(T4)降低幅度依次为:蕾期 62.00%、71.14%、85.94%,花铃期 45.24%、41.44%、70.69%,吐絮期 42.78%、39.99%、63.92%,全生育期总体降低比例 49.04%、48.62%、71.55%,T3 处理病害程度最轻。各药剂不同的施药量下,T1 处理随着施药量的增加病指显著降低($P=0.031$),T2 处理的中施药量 18.0 kg/hm² 其病害程度显著低于其他施药水平,T3 处理总体上表现为随施药量的加大病指依次降低。

基于病指数据的防病效果计算结果显示,施药处理 T1、T2、T3 在不同生育期对棉花黄萎病的防治效果为:蕾期 59.30%、68.28%、84.99%,花铃期 46.78%、43.44%、70.19%,吐絮期 42.17%、39.33%、62.18%,3 种药剂对棉花黄萎病防治作用显著,且生育前期防效明显高于生育后期。每种药剂施药量的增减变化对黄萎病抑菌效果差异显著,其中,T1 处理全生育期平均防效随施药量的增加显著提高($P=0.017$),施药量 45.0 kg/hm² 防效较 15.0 kg/hm²、30.0 kg/hm² 提高 24.72%、7.09%,符合一般的施药效应;T2 处理的防病效果未随施药量的增加而增加,防病效果以中施药量 18.0 kg/hm² 最明显;T3 处理的防病效果总体上随施药量的增加而增加,3 个施药量整个生育期的平均防效依次达到 67.97%、72.00%、77.39%,中、高施药量之间无显著差异($P=0.073$)。

2.2 不同施药处理对棉花生长性状的影响

通过棉花生长性状数据统计,研究表明,施用生物药剂后除对棉花黄萎病具有不同程度的防治效果外,对棉花的生长发育及产量也表现出较好的促进作用(表 3)。与清水对照相比,T1、T2、T3 处理棉花的株高分别增加 11.56%、15.50%、18.34%,果枝台数分别增加 51.07%、31.87%、58.53%,结蕾数分别增加 60.10%、53.09%、66.29%,有效结铃数分别增加 35.67%、8.06%、42.99%,3 种生物滴施后对棉花促生作用效果大小表现为 T3>T1>T2,这与 T3(“99 植保”)本身含有多种微量元素、氨基酸和有机活性物质密切相关。

每种药剂不同的滴施用量对棉花生长及产量

因子的影响显著不同,其中,对株高的影响,T1 表现为随着施药量的增加显著增加($P=0.008$);T2 和 T3 处理各施药量之间差异不大。对果枝数的影响,T1 和 T3 处理随施药量的增加而依次增加(P 值分别为 0.010、0.009),T2 处理的 3 个施药量之间果枝台数无显著差异($P=0.058$)。对结蕾数和有效结铃数的影响,3 种施药处理均随施药量的增加而增加,其中,T2 和 T3 处理的中、高施药量之间结蕾数差异不显著(P 值分别为

0.075、0.133),T2 施药量 18.0 kg/hm²、24.0 kg/hm² 蕾数分别为 15.23、15.63,T3 施药量 22.5 kg/hm² 和 30.0 kg/hm² 蕾数为 16.23、16.60。总体上,各施药处理均表现为随施药量的增加对棉花的促生增产效果显著增加。

2.3 不同施药处理对棉田土壤微生物数量的影响

通过对棉花耕层土壤中微生物的分离计数,研究发现,较不施药处理,3 种生物药剂随水滴施

表 2 不同施药处理下棉花黄萎病的发病率、病情指数和防病效果

Table 2 Disease incidence and disease severity and control efficiency of different biological agents application against cotton *Verticillium* wilt

处理 Treatment	施用量/ (kg/hm ²) Application level	蕾期 Bud stage			花铃期 Flower stage		
		发病率/% Incidence rate	病指 Disease index	防效/% Control efficiency	发病率/% Incidence rate	病指 Disease index	防效/% Control efficiency
T1	15.0	22.23±0.12 b	8.19±0.17 b	44.20±17.85 f	34.56±1.19 b	13.68±2.55 b	32.50±10.07 e
	30.0	17.39±0.10 c	8.05±0.07 b	68.22±0.40 d	24.66±3.49 c	9.45±0.57 cd	52.54±0.79 c
	45.0	12.71±0.06 de	5.38±0.20 d	70.52±0.60 cd	21.48±0.77 d	7.80±0.57 d	60.06±1.35 bc
	平均 Average	17.44±0.13	7.21±0.32	59.30±16.62	26.90±6.37	10.65±3.09	46.78±13.96
T2	15.0	20.34±0.19 bc	5.87±0.11 cd	66.46±0.11 d	34.09±1.88 b	14.91±0.59 b	26.57±0.57 f
	18.0	15.36±0.37 d	4.14±0.07 e	76.23±0.48 c	24.40±0.77 c	9.23±0.47 cd	54.41±0.72 c
	24.0	18.11±0.45 c	6.44±0.10 c	62.15±0.44 e	30.44±1.11 bc	10.03±0.19 c	49.36±0.78 d
	平均 Average	17.94±0.98	5.48±0.24	68.28±6.26	30.88±5.12	11.39±2.69	43.44±12.86
T3	15.0	12.22±3.49 de	2.91±0.03 f	83.61±0.43 ab	26.12±0.58 c	7.25±0.39 d	63.60±0.70 b
	22.5	8.44±0.08 e	2.86±0.26 f	84.54±0.69 ab	18.25±0.70 e	5.47±0.38 e	69.60±1.63 ab
	30.0	7.49±0.46 f	2.32±0.02 fg	86.83±0.12 a	17.50±1.13 f	4.38±0.36 f	77.38±1.47 a
	平均 Average	9.38±0.74	2.67±0.09	84.99±1.49	20.62±5.18	5.70±1.30	70.19±6.09
T4(CK)		40.11±9.22 a	18.99±2.25 a	—	52.12±8.23 a	19.45±3.48 a	—
处理 Treatment	施用量/ (kg/hm ²) Application level	吐絮期 Wadding stage			全生育期 The whole growth period		
		发病率/% Incidence rate	病指 Disease index	防效/% Control efficiency	发病率/% Incidence rate	病指 Disease index	防效/% Control efficiency
T1	15.0	40.34±1.01 b	19.55±0.65 c	40.85±1.41 d	29.21±0.60 b	13.81±0.37 b	43.83±0.77 e
	30.0	33.81±1.66 c	19.20±0.25 c	41.53±0.69 cd	25.94±0.12 c	12.23±0.19 bc	54.10±0.27 d
	45.0	31.41±9.32 cd	18.33±0.56 cd	44.12±1.47 c	25.84±0.84 c	10.50±0.34 c	58.23±0.76 c
	平均 Average	35.19±6.50	19.03±0.70	42.17±1.84	26.99±1.74	12.18±0.56	52.05±6.45
T2	15.0	38.41±0.86 b	23.58±0.20 b	27.53±0.05 f	29.73±0.60 b	14.79±0.13 b	41.35±0.58 b
	18.0	30.06±1.20 cd	15.12±0.71 d	54.94±1.21 b	23.27±0.59 d	9.50±0.35 d	61.86±0.54 b
	24.0	37.02±1.34 b	21.18±1.11 b	35.33±1.29 e	31.06±0.51 b	12.55±0.53 bc	47.78±0.23 de
	平均 Average	35.16±5.49	19.96±3.83	39.33±9.26	28.02±3.64	12.28±2.16	50.33±9.09
T3	15.0	33.86±0.50 c	14.29±0.86 e	56.71±1.70 b	23.48±0.08 d	8.14±0.37 d	67.97±0.38 b
	22.5	29.46±0.73 d	11.31±0.89 f	61.87±1.60 ab	18.68±0.07 e	6.55±0.35 e	72.00±0.85 ab
	30.0	29.50±0.90 d	10.41±0.73 f	67.96±1.73 a	15.50±0.16 ef	5.70±0.15 ef	77.39±0.15 a
	平均 Average	30.94±1.01	12.00±1.90	62.18±5.09	19.22±3.48	6.80±1.11	72.46±4.12
T4(CK)		58.18±4.03 a	33.26±1.49 a	—	50.01±4.07 a	23.90±2.19 a	—

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Vertical bars labeled with different lowercase letters are significant difference ($P<0.05$). The same below.

表 3 不同施药处理下棉花生长表现及产量因子变化

Table 3 Changes of different biological agents application on cotton growth and production

处理 Treatment	施药量/(kg/hm ²) Application level	株高 /cm Plant height	单株果枝台数 Branch number	单株蕾数 Grey number	单株有效铃数 Effective boll number
T1	15.0	61.10±0.95 c	10.57±0.51 bc	14.97±0.45 b	8.62±0.38 b
	30.0	65.16±0.74 b	11.23±0.47 b	15.33±0.47 b	8.68±0.50 b
	45.0	68.05±0.76 a	12.20±0.17 a	16.30±0.20 a	9.98±0.88 ab
	平均 Average	64.77±3.11	11.33±0.80	15.53±0.69	9.09±0.90
T2	15.0	65.36±1.07 b	9.17±0.29 c	13.70±0.46 c	6.77±0.44 d
	18.0	67.72±0.04 ab	9.93±0.15 c	15.23±0.32 b	6.97±0.90 c
	24.0	68.10±0.70 a	10.57±0.21 bc	15.63±0.81 b	8.00±0.10 bc
	平均 Average	67.06±1.44	9.89±0.64	14.85±0.99	7.24±0.76
T3	15.0	66.12±0.85 ab	11.20±0.30 b	14.53±0.99 b	8.27±0.55 b
	22.5	69.91±0.41 a	11.80±0.26 b	16.23±0.75 a	9.38±0.41 ab
	30.0	70.11±1.10 a	12.67±0.06 a	16.60±0.36 a	11.10±0.46 a
	平均 Average	68.71±1.36	11.89±0.69	16.13±0.65	9.58±1.23
T4(CK)		58.06±2.02 d	7.51±0.25 d	9.70±0.23 d	6.73±0.32 c

后土壤中细菌和放线菌数量显著增加(P 值分别为 0.008、0.035), 而真菌数量显著降低($P=0.017$)(表 4)。T1 处理土壤中细菌数量增加比例显著高于 T2 和 T3, T3 处理土壤真菌数量降低最明显。表明生物药剂施入土壤后丰富了土壤微生物菌群结构。

每种药剂不同的施药量对土壤微生物数量的影响也显著不同。T1 处理随着施药量的增加, 细菌数量分别增加 43.74%、50.33%、54.98%, 放线菌数量分别增加 11.36%、28.57%、39.06%,

真菌数量分别降低 43.52%、46.30%、54.63%, 施药量的增加对土壤真菌数量的影响显著($P=0.025$)。T2 处理土壤细菌和真菌数量随着施药量的增加而显著增加, 而施药量为 18.0 kg/hm² 的放线菌数量高出其他施药量近 2 倍, 施药量 18.0 kg/hm² 对黄萎病的防效显著高于 15.0 kg/hm² 和 24.0 kg/hm², 可能与土壤放线菌数量的显著增加密切相关。T3 处理土壤细菌、放线菌和真菌的数量增减变化与 T1 处理趋势相同, 且不同施药量之间差异显著。

表 4 不同施药处理下 0~15 cm 土层土壤微生物数量变化

Table 4 Changes of different biological agents application on soil microbial quantity at 0—15 cm soil layer

处理 Treatment	施药量/(kg/hm ²) Application level	细菌/(10 ⁶ cfu/g) Bacteria	放线菌/(10 ⁵ cfu/g) Actinomycetes	真菌/(10 ³ cfu/g) Fungi
T1	15.0	148.33±6.66 c	2.20±0.36 d	1.83±0.11 c
	30.0	168.00±7.01 b	2.73±0.32 c	1.74±0.05 d
	45.0	185.35±8.50 a	3.20±0.30 b	1.47±0.06 f
	平均 Average	167.22±17.28	2.71±0.52	1.68±0.18
T2	15.0	84.33±13.61 f	2.59±0.15 c	1.95±0.05 c
	18.0	108.67±10.97 e	4.03±0.15 ab	2.12±0.06 bc
	24.0	123.33±1.53 d	2.76±0.27 c	2.77±0.19 b
	平均 Average	105.44±19.18	3.13±0.71	2.28±0.39
T3	15.0	97.67±11.24 f	1.95±0.09 e	1.69±0.19 e
	22.5	120.67±3.79 d	3.71±0.20 b	1.33±0.28 f
	30.0	138.00±4.58 c	4.46±0.48 a	0.99±0.16 g
	平均 Average	118.78±18.64	3.37±1.15	1.37±0.37
T4(CK)		83.44±11.44 f	1.95±0.31 e	3.24±0.54 a

3 讨论

本试验结果显示,3种生物药剂枯草芽孢杆菌剂、木霉菌剂和“99植保”在棉花生育前期随水滴施后对黄萎病的防病效果显著提高,全生育期平均防效分别达到52.05%、50.33%和72.46%,但并不都是随施药量的增加而增加。其中,枯草芽孢杆菌剂处理黄萎病的发病率、病指随施药量增加显著降低,防病效果明显增加,在45.0 kg/hm²的高施药量下可达到59.23%,符合一般的施药效应,而木霉菌剂施药量18.0 kg/hm²的防病效果显著高于15.0 kg/hm²和24.0 kg/hm²，“99植保”施药量22.5 kg/hm²、30.0 kg/hm²之间差异并不明显。目前,生产上用于防治棉花黄萎病的生物农药相对较少,报道较多的主要有枯草芽孢杆菌制剂、木霉菌制剂、“99植保”、氨基寡糖素、植物激活蛋白、宁南霉素等,相关的药效试验数据显示,不同的植棉区因土壤环境等不同,生物药剂的施药方式不同,在施药量上存在显著差异^[20, 25-30]。生物药剂以滴灌的方式随水施入土壤,合适的施用量对于药效作用的发挥尤为关键。生物药剂尤其是微生物菌剂,如果用量过少,药剂本身的抗病菌不能稳定繁殖并在根际微生物群落中占据优势地位,就无法与土壤病原菌形成有效竞争;如果施用量过多,势必会对土壤其他有益菌群产生影响,也必然影响防病效果^[21, 31]。另外,试验还发现,棉花生育前期防效明显高于生育后期,原因可能是生防菌进入土壤并且生长繁殖,打破原有的土壤微生物菌群结构,但随着时间的推移,这种被破坏的微生态平衡会趋于恢复正常^[32]。

本研究显示,3种生物药剂滴施后除棉花黄萎病害具有不同程度的防病效果外,对棉花的生长发育及产量也表现出一定的促进作用,尤其表现在果枝数和蕾铃数的显著增加,这种促生效果基本上与施药量呈正相关。本试验前期开展生物药剂施用对土壤理化性状的影响研究,发现滴施枯草芽孢杆菌剂、木霉菌剂和“99植保”后土壤有机质含量分别增加33.91%、25.14%和45.29%。土壤有机质是微生物生命活动的重要碳源,而土壤微生物是土壤养分分解和转化的活性库,表明生物药剂滴施后促进土壤养分的释放,养分随棉花根系的生长会不断向地上部分输送,从而为地上植株的生长发育奠定物质基础^[33]。

本研究发现,3种药剂滴施后对土壤微生物结构具有明显改善作用,其中,土壤细菌数量随施药量的增加呈倍数增加,枯草芽孢杆菌剂和“99植保”处理随施药量增加真菌数量有不同程度的降低、放线菌数量依次增加,施药量为18.0 kg/hm²时木霉菌剂的放线菌数量高出其他施药量的近2倍,而该施药量的防病效果也显著高于另外两个施药量。诸多学者研究表明,植物健康状况与土壤微生物群落结构变化密切相关^[34-36]。生物药剂施入土壤必然会引起土壤微生物数量变化,而土壤微生物之间,又通过错综复杂的作用,影响不同物种的增减消涨,从而间接影响地上植株的抗病性和生长代谢。

4 结论

通过综合分析棉花黄萎病防病率及防病效果、生长表现和土壤微生物数量变化,本试验条件下3种生物药剂随水滴施对棉花防病促生大小依次为渝峰“99植保”、“施倍健”哈茨木霉菌剂、枯草芽孢杆菌剂。渝峰“99植保”随施药量的增加,棉田黄萎病发病率显著降低、果枝数和蕾铃数明显增加,但施药量22.5 kg/hm²与30.0 kg/hm²差异不大;“施倍健”哈茨木霉菌剂施药量18.0 kg/hm²的防病效果显著高于15.0 kg/hm²和24.0 kg/hm²,但18.0 kg/hm²与24.0 kg/hm²对棉花生长表现及增产效果差异不明显;枯草芽孢杆菌剂的防病效果及促生作用随施药量的增加而显著增加。考虑生物药剂成本较高,所以生产中对于黄萎病害较为严重的棉田,建议3种生物药剂的滴施用量为:渝峰“99植保”22.5 kg/hm²、“施倍健”哈茨木霉菌剂18.0 kg/hm²、枯草芽孢杆菌剂45.0 kg/hm²。

生物药剂施入土壤药效的发挥需要一定的周期,故合适的施药时间很关键;另外,生物药剂药效较慢且不稳定,单施成本较高。因此,滴施最佳时间以及不同生物药剂与有机肥配施是今后的研究方向。

参考文献 Reference:

- [1] 胡保明. 新疆棉花资源优势分析[J]. 新疆农业大学学报, 2002, 25(3): 87-90.
HU B M. Analysis on predominance of cotton resource in Xinjiang [J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2002, 25(3): 87-90.
- [2] 新疆维吾尔自治区统计局. 新疆统计年鉴[M]. 北京: 中国

- 统计出版社,2015:356-358.
Statistic Bureau of Xinjiang Uygur Autonomous Region. Xinjiang Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Statistics Press,2015:356-358.
- [3] 杨忠娜,唐继军,喻晓玲. 新疆棉花产业对国民经济的影响及对策研究[J]. 农业现代化研究,2013,34(3):289-303.
YANG ZH N, TANG J J, YU X L. Xinjiang cotton industry present situation and countermeasure reseach[J]. *Reseach of Agricultural Modernization*, 2013, 34(3):289-303.
- [4] 刘海洋,王 伟,张仁福,等. 新疆主要棉区棉花黄萎病发生概况[J]. 植物保护,2015,41(3):138-142.
LIU H Y, WANG W, ZHANG R F, *et al.* Occurrence overviews of cotton *Verticillium* wilt in Xinjiang [J]. *Plant Ptrotection*, 2015, 41(3):138-142.
- [5] 章茂林,夏日照,廖晓兰. 棉花黄萎病防治方法研究进展[J]. 现代农业科技,2014(7):128-131.
ZHANG M L, XIA R ZH, LIAO X L. Research progress of prevention methods on cotton *Verticillium* wilt[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2014(7):128-131.
- [6] 朱荷琴,李志芳,冯自力,等. 我国棉花黄萎病研究十年回顾及展望[J]. 棉花学报,2017,29(S1):37-50.
ZHU H Q, LI ZH F, FENG Z L, *et al.* Overview of cotton *Verticillium* wilt research over the past decade in China and its prospect in future[J]. *Cotton Science*, 2017, 29 (S1): 37-50.
- [7] 郑冬梅. 中国生物农药产业发展研究[D]. 福州:福建农林大学,2006:11-15.
ZHENG D M. Studies on development trend of bio-pesticide industry in China[D]. Fuzhou: Fujian Agricultural University, 2006:11-15.
- [8] 汤 静,赵桂荣. 益微生物制剂防治棉花黄萎病研究[J]. 安徽农学通报,2015,21(10):91-92.
TANG J, ZHAO G R. Studies on beneficial microbial agents prevention of cotton *Verticillium* wilt[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2015, 21(10):91-92.
- [9] 周京龙,冯自力,冯鸿杰,等. 棉花内生蜡状芽孢杆菌 YUPP-10 对棉花黄萎病的防治作用及机制[J]. 中国农业科学,2017,50(14):2717-2727.
ZHOU J L, FENG Z L, FENG H J, *et al.* Biocontrol effect and mechanism of cotton endophytic bacterium *Bacillus cereus* YUPP-10 against *Verticillium* wilt in *Gossypium hirsutum*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(14):2717-2727.
- [10] AYSLU M M, GUZEL F H, MARAT T L, *et al.* *Bacillus subtilis* strains with antifungal activity against the phytopathogenic fungi[J]. *Agricultural Sciences*, 2017, 8(1):1-20.
- [11] XIAO G L, YAN A Z, CHANG F D. Declined soil suppressiveness to *Fusarium oxysporum* by rhizosphere microflora of cotton in soil sickness[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(8):935-946.
- [12] LI C H, SHI L, HAN Q, *et al.* Biocontrol of *Verticillium* wilt and colonization of cotton plants by an endophytic bacterial isolate[J]. *Applied Microbiology*, 2012(113):641-651.
- [13] 梁 宏,黄 静,赵 佳,等. 生物防治棉花黄萎病的研究进展[J]. 生物技术通报,2015,31(5):1-6.
LIANG H, HUANG J, ZHAO J, *et al.* Studies on biocontrol of cotton *Verticillium* wilt[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2015, 31(5):1-6.
- [14] 张保华,张玉红. 不同药剂防治棉花黄萎病试验效果[J]. 中国棉花,2005(S1):87-88.
ZHANG B H, ZHANG Y H. The control effect of different agents on cotton *Verticillium* wilt[J]. *China Cotton*, 2005(S1):87-88.
- [15] WANG X, ZHU H, REI M E, *et al.* Delivery of chemical and microbial pesticides through drip irrigation systems [J]. *Applied Engineering in Agriculture*, 2009, 25(6):231-236.
- [16] GENCSOYLU I, HOROWITZ A R, SEZGIN F, *et al.* Effect of drip and furrow irrigation methods on *Bemisia tabaci* populations in cotton fields[J]. *Phytoparasitica*, 2003, 31(2):139-143.
- [17] 陈 林. 新疆节水灌溉发展现状、面临的问题及建议[J]. 新疆农垦科技,2016(6):62-64.
CHEN L. The present situation, problems and suggestions of Xinjiang water-saving irrigation [J]. *Xinjiang Farmland Reclamation Science and Technology*, 2016(6):62-64.
- [18] BERG G, FRITZE A, ROSTKOT N, *et al.* Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 91:963-971.
- [19] 姜善伟,王大光,张鹏忠,等. 枯草芽孢杆菌随水滴施防治棉花黄萎病的应用研究[J]. 中国棉花,2015,42(7):25-28.
LOU SH W, WANG D G, ZHANG P ZH, *et al.* The study of *Bacillus subtilis* with water appication to control of cotton *Verticillium* wilt [J]. *China Cotton*, 2015, 42(7):25-28.
- [20] 刘 政,孙 艳,张学坤,等. 木霉菌厚垣孢子制剂对土壤微生物数量和棉花黄萎病的影响[J]. 新疆农业科学,2015,52(1):97-101.
LIU ZH, SUN Y, ZHANG X K, *et al.* Effect of *Trichoderma humatum* agent on amount of soil microorganism and cotton *Verticillium* wilt[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2015, 52(1):97-101.
- [21] 罗静静,刘小龙,李克梅,等. 几种微生物菌剂对连作棉田枯黄萎病的防病效应[J]. 西北农业学报,2015,24(7):136-143.
LUO J J, LIU X L, LI K M, *et al.* Effects of microbial agent inoculations on controlling *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* in cotton fields of continuous cropping[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,

- 2015,24(7):136-143.
- [22] 罗燕娜,杜娟,李俊华,等.滴灌条件下枯草芽胞杆菌 S37 和 S44 对棉花黄萎病的防治效果[J].植物保护,2011,37(2):174-176,181.
LUO Y N,DU J,LI J H,*et al.* Control efficacy of *Bacillus subtilis* S37 and S44 against cotton *Verticillium* wilt by under-mulch-drip irrigation [J]. *Plant Protection*, 2011, 37(2):174-176,181.
- [23] 沈其益.棉花病害基础研究与防治[M].北京:科学出版社,1992.
SHEN Q Y. The Basic Research of Cotton Diseases and Prevention[M]. Beijing:Science Press,1992.
- [24] 李振高,骆永明,滕应.土壤与环境微生物研究法[M].北京:科学出版社,2008.
LI ZH G,LUO Y M,TENG Y. The Research Methods of Soil and Environmental Microbiological[M]. Beijing: Science Press,2008.
- [25] 李广华,李虎,戴爱梅.1 000 亿芽孢/克枯草芽胞杆菌可湿性粉剂防治棉花黄萎病大田试验[J].新疆农业科技,2016(1):45-46.
LI G H,LI H,DAI A M. The field test of 100 billion spore per gram *Bacillus chlorobacterium* application to prevent cotton *Verticillium* wilt [J]. *Xinjiang Agricultural Science and Technology*, 2016(1):45-46.
- [26] 刘克锋,张先亮,楚宗艳,等.枯草芽胞杆菌对棉花黄萎病田间防治效果试验[J].中国棉花,2013,40(11):32-33.
LIU K F,ZHANG X L,CHU Z Y,*et al.* Effects of *Bacillus subtilis* to *Verticillium* wilt of cotton [J]. *China Cotton*, 2013,40(11):32-33.
- [27] 陈云峰,乐群芬,丁立成,等.“渝峰 99 植保”叶面肥对棉花药肥双效试验[J].湖北农业科学,2016,55(15):3897-3899.
CHEN Y F,LE Q F,DING L CH,*et al.* The insecticide and fertilizer double effect test of “Yufeng 99 plant protection” to cotton [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2016, 55(15):3897-3899.
- [28] 吕新芝.“99 植保”防治棉花黄萎病试验[J].农村科技,2015(7):40-41.
LÜ X ZH. The test of prevent cotton *Verticillium* wilt by using 99 agent [J]. *Rural Science and Technology*, 2015 (7):40-41.
- [29] 冯自力,朱荷琴,李志芳,等.氨基寡糖素水剂对棉花黄萎病的防治效果及其使用技术[J].中国棉花,2014,41(7):11-13.
FENG Z L,ZHU H Q,LI ZH F,*et al.* Control and application techniques of oligosaccharins against cotton *Verticillium* wilt [J]. *China Cotton*, 2014,41(7):11-13.
- [30] 李雪玲,厉云,张天宇,等.利用木霉菌防治棉花黄萎病[J].植物保护学报,2003,30(3):284-287.
LI X L,LI Y,ZHANG T Y,*et al.* Application of *Trichoderma* spp. in the control of cotton *Verticillium* wilt [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2003,30(3):284-287.
- [31] SCHERWINSKI K, WOLF A, BERG G. Assessing the risk of biological control agents on the indigenous microbial communities: *Serratia plymuthica* HRO-C48 and *Streptomyces* sp. HRO-71 as model bacteria [J]. *Biocontrol*, 2007, 52:87-112.
- [32] 郭丽娜.多功能生防菌剂 BCLRs 与棉花互作的微生态研究[D].新疆石河子:石河子大学,2012:45-49.
GUO L N. Research on micro-ecology of multi-function bio-control bacteria agent BCLRs interacted with cotton [D]. Shihezi Xinjiang:Shihezi University,2012:45-49.
- [33] 田小明,李俊华,危常州,等.不同生物有机肥用量对棉花黄萎病防治的生物效应[J].干旱地区农业研究,2012,30(5):154-159,169.
TIAN X M,LI J H,WEI CH ZH,*et al.* Biological effects of diferent application amount of bio-organic fertilizer on controlling cotton *Verticillium* wilt [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2012, 30(5):154-159,169.
- [34] 顾美英,徐万里,茆军,等.新疆棉花黄萎病发病株根际土壤微生物生态特征[J].西北农业学报,2009,18(2):276-279.
GU M Y,XU W L,MAO J,*et al.* Rhizosphere soil microbial ecological characteristics of infected cotton plants by *Verticillium* wilt in Xinjiang [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2009,18(2):276-279.
- [35] 沈瑞清,张萍,康萍芝,等.根际微生物与植物病害关系的研究进展[J].宁夏农林科技,2006(5):46-47,61.
SHEN R Q,ZHANG P,KANG P ZH,*et al.* The research progress of relationship between plant rhizosphere microorganisms and diseases [J]. *Ningxia Journal Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2006(5):46-47,61.
- [36] 徐瑞富,陆宁海,李小丽,等.土壤微生物群落对棉花黄萎病的影响[J].棉花学报,2004,16(6):357-359.
XU R F,LU N H,LI X L,*et al.* The influence of soil microorganism to cotton *Verticillium* wilt [J]. *Cotton Science*, 2004,16(6):357-359.

Effects of Different Biological Agents Application through Drip Irrigation Systems on Cotton *Vertillium* Wilt Prevention, Cotton Growth and Soil Microbial Quantity

LÜ Ning^{1,2}, ZHOU Guanghai¹, CHEN Yun³,
SHI Lei³, LI Quansheng⁴ and ZHANG Guoli⁴

(1. Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Sciences, Shihezi Xinjiang 832000, China; 2. College of Economics and Management, Shihezi University, Shihezi Xinjiang 832000, China; 3. Research Institute of Farmland Water Conservancy, Soil and Fertilizer, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science, Shihezi Xinjiang 832000, China; 4. Biotechnology Research Institute, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Sciences, Shihezi Xinjiang 832000, China)

Abstract Field plot experiment was designed to study the effects of *Bacillus subtilis* agent (15.0, 30.0 and 45.0 kg/hm²), *Trichoderma humatum* agent (15.0, 18.0 and 24.0 kg/hm²) and “Yufeng 99” (15.0, 22.5 and 30.0 kg/hm²) through drip irrigation systems on the change of cotton *Vertillium* wilt prevention, cotton growth and soil microbial quantity. The results showed that three biological agents application could reduce incidence and disease index of the cotton *Vertillium* wilt. The control effects of *Vertillium* wilt increased significantly with the increase of dosage of *Bacillus subtilis* agent. When the dosage of *Trichoderma humatum* was 18.0 kg/hm², the control effect reached 61.86% at whole growth period, which was significantly higher than 15.0 kg/hm² and 24.0 kg/hm². The control effect of “Yufeng 99” agent for *Vertillium* wilt reached 72.46%, but the increasing proportion was not significant between 22.5 kg/hm² and 30.0 kg/hm² application levels. Meanwhile, there were obvious promotion effects on cotton growth and yield when three agents were applied. The cotton height, branch number and boll number were significantly increased with the increase of dosage of *Bacillus subtilis* agent. Application of *Trichoderma humatum* and “Yufeng 99” agents, the cotton height had no obvious change, but the number of branch and boll increased with the increase of dosage level. The microbial community structure was significantly affected by three kinds of biological agents through drip irrigating in rhizosphere soil of cotton field. When *Bacillus subtilis* and “Yufeng 99” were used, the number of actinomycetes significantly increased with the increase of application level, but the number of fungi decreased. The number of actinomycetes were about two times higher at 18.0 kg/hm² application level than other application levels under *Trichoderma humatum* agent treatment. Therefore, according to effects of cotton disease control and growth performance, the proper application level of three kinds of agents were 22.5 kg/hm² (“Yufeng 99”), 18.0 kg/hm² (*Trichoderma humatum*) and 45.0 kg/hm² (*Bacillus subtilis*), respectively.

Key words Biological agents; Drip irrigating; Cotton *Vertillium* wilt prevention; Growth-promoting; Soil microbial quantity

Received 2017-04-20

Returned 2017-09-28

Foundation item Key Research and Development Plan of China (No. 2016yfd02004005-4); the Project of Modern Agricultural Science and Technology Research of Xinjiang Production and Construction Corps (No. 2015AC008); the Project of S&T Achievements Transformation of Bingtuan (No. 2016AD029).

First author LÜ Ning, female, assistant research fellow, doctoral student. Research area: plant nutrition, biological fertilizer. E-mail: lvning20030118@163.com

Corresponding author CHEN Yun, male, research fellow. Research area: biological fertilizer. E-mail: Nkycy8216@163.com

(责任编辑:郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)