

网络出版日期:2017-10-18

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20171018.1733.028.html>

pH 及盐分对大丽轮枝菌微菌核形成的影响

薛磊^{1,2}, 徐万里³, 顾美英⁴, 王建涛⁵, 刘相春⁵, 薛泉宏⁵

(1. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西杨凌 712100; 2. 陕西中烟工业有限责任公司技术中心, 西安 710065;
3. 新疆农业科学院 土壤肥料与农业节水研究所, 乌鲁木齐 830091; 4. 新疆农业科学院 微生物应用研究所,
乌鲁木齐 830091; 5. 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 微菌核是棉花黄萎病原大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.) 在土壤中的主要存活形式及该病的侵染源, 研究土壤 pH 及盐分对大丽轮枝菌微菌核形成的影响对明确黄萎病发生具有重要意义。采用菌丝生长速率法研究培养基 pH 及盐分质量浓度与种类对病原菌生长及微菌核形成的影响。供试大丽轮枝菌菌丝生长最适 pH 为 7.0, 偏酸或偏碱会抑制菌丝生长, 但培养基偏碱可显著促进微菌核形成。当 pH 为 8.0 时, 大丽轮枝菌菌丝生长受抑制较小, 同时微菌核区面积较 pH 为 7.0 时增加 22.6%。盐分质量浓度影响大丽轮枝菌菌丝生长及微菌核形成。随培养基 NaCl 质量浓度增加, 供试大丽轮枝菌生长受到抑制, 菌落面积和菌丝面积均逐渐减小, 但微菌核形成量却显著增加; 当 NaCl 质量浓度为 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 微菌核区面积较无 NaCl 时增加 40.7%。盐分种类影响供试大丽轮枝菌生长。随盐分质量浓度增加, 氯化物(NaCl 和 KCl)和硫酸盐(Na_2SO_4 和 MgSO_4)均可促进大丽轮枝菌微菌核形成, 而 CaCl_2 则显著促进菌丝生长, 并在质量浓度大于 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时抑制微菌核形成。在培养环境偏碱性或氯化物和硫酸盐含盐量较高时, 均可促进棉花黄萎病原大丽轮枝菌微菌核形成量增加。

关键词 棉花黄萎病; 大丽轮枝菌; 微菌核; pH; 盐分

中图分类号 S435.62

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2017)10-1520-09

棉花是中国重要的经济作物。棉花黄萎病属土传性维管束系统病害, 主要由大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.) 从棉株根部侵染造成^[1-2], 使棉花维管堵塞、植株枯死和蕾铃脱落, 严重影响棉花生产^[3-4]。该病害难以根治的主要原因在于大丽轮枝菌形成的微菌核能抵抗不良环境, 在土壤中长期存活, 成为该病反复发生的侵染源^[5-7]。棉田土壤中微菌核的数量及活性直接影响棉花黄萎病的发生与危害程度^[8-9]。故研究大丽轮枝菌微菌核形成的影响因素对从微生态角度揭示棉花黄萎病发生及流行原因, 从土壤微生态调控途径预防控制棉花黄萎病发生, 并减轻其危害具有重要意义。棉田土壤是大丽轮枝菌微菌核形成与存在的重要环境, 土壤 pH 与盐分质量浓度不仅对作物及微生物生长有重要作用, 对微菌核形成也会产生一定影响, 但目前仅对棉花黄萎

病菌微菌核在土壤中的分布^[10]、微菌核与病害的关系及土壤条件(温度、湿度和有机质等)对微菌核存活的影响^[11-12]进行过研究, 尚无 pH 及盐分对棉花黄萎病菌微菌核形成影响的报道。作为中国棉花主产地的新疆地区属内陆盐土区, 棉田土壤 pH 及盐分质量浓度均较高^[13-14], 二者对棉花黄萎病菌微菌核的影响均大于其他棉区。近年的研究也表明, 新疆地区棉花黄萎病害的发生与菌量呈明显正相关^[15]。故研究 pH 及盐分对大丽轮枝菌微菌核形成的影响对探究棉花黄萎病在新疆棉区长期流行的微生态机制及防治有重要意义。本试验根据新疆棉区土壤 pH 和盐分质量浓度设计培养基 pH、盐分种类及质量浓度, 旨在通过皿内模拟研究探索 pH 及盐分对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响, 进而确定 pH 及盐分在棉花黄萎病普遍发生及流行中所起的作用, 为阐

收稿日期: 2016-07-22 修回日期: 2016-08-25

基金项目: 国家自然科学基金(31460148, 41261065); 国家“十二五”重大科技支撑计划(2012BAD05B03)。

第一作者: 薛磊, 男, 博士研究生, 研究方向为微生物资源与利用。E-mail: xuelei@nwsuaf.edu.cn

通信作者: 薛泉宏, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为微生物资源与利用。E-mail: xuequanhong123@163.com

顾美英, 女, 副研究员, 研究方向为微生物资源与利用。E-mail: gmyxj2008@163.com

明新疆地区棉花黄萎病流行机理及制定棉花黄萎病综合防治措施提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试病原菌 大丽轮枝菌 (*V. dahliae* Kleb.), 为丝核型菌株, 属棉花黄萎病陕西泾阳落叶型高致病菌株, 由西北农林科技大学植物保护学院杨家荣教授提供。

培养基: 病原菌活化、培养采用 PDA 培养基^[16]。

1.2 方 法

1.2.1 大丽轮枝菌菌饼制备 将大丽轮枝菌经 PDA 斜面转接活化后, 进行单孢纯化, 将纯化后的大丽轮枝菌单一菌核放置于 PDA 平板中心, 25 ℃ 下避光培养, 待其长满培养皿后, 用打孔器切取, 制成直径为 7 mm 的病原菌菌饼。

1.2.2 pH 对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响 用 0.1 mol · L⁻¹ HCl 或 NaOH 调节 PDA 培养基 pH, 制成 pH 分别为 5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5 的供试平板, 将“1.2.1”制备的 7 mm 大丽轮枝菌菌饼置于平板中央, 于 25 ℃ 下避光培养。各处理均重复 3 次。

1.2.3 盐质量浓度对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响 在 PDA 培养基中加入质量浓度分别为 0(CK)、1、2、4、6、8、10、15、20、25 g · L⁻¹ 的 NaCl, 制成不同质量浓度 NaCl 供试平板, 将“1.2.1”制备的 7 mm 大丽轮枝菌菌饼置于平板中央, 于 25 ℃ 下避光培养。各处理均重复 3 次。

1.2.4 不同盐种类及质量浓度对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响 在 PDA 培养基中按 1、3、5、7、9 g · L⁻¹ 质量浓度分别加入 NaCl、KCl、Na₂SO₄、MgSO₄、CaCl₂, 制成不同质量浓度、含不同种类盐的供试平板, 将“1.2.1”制备的 7 mm 病原菌菌饼置于平板中央, 25 ℃ 下避光培养。各处理均重复 3 次。

1.2.5 大丽轮枝菌生长状况观察及菌丝与微菌核区大小测定 将上述各处理大丽轮枝菌平板自第 6 天起每 48 h 记录生长状况, 并观察记录微菌核形成时间; 采用十字交叉法测量病原菌菌丝区直径 *d*、菌落总直径 *D*; 采用 Image Pro Plus 6.0 软件进行图片颜色分析, 分别测定微菌核区面积像素值 (Microselerotia Area Pixels, MSAP) 及菌落总面积像素值 (Colony Area Pixels, CAP)。

1.2.6 结果计算 根据菌落直径测值计算菌落总面积 (Colony Area, 缩写为 CA)、菌丝面积 (Mycelium Area, 缩写为 MA), 计算菌丝占菌落面积比例 (Mycelium Percentage, 缩写为 MP), 微菌核区面积占菌落总面积的比例 (Microselerotia Proportion, 缩写为 MSP), 微菌核区面积 (Microselerotia Area, 缩写为 MSA) 及 pH 或盐分对 CA、MA、MP、MSP 及 MSA 的抑制率 Δ_K。其计算公式分别为:

$$\Delta_D = \frac{(D_t - D_{CK})}{D_{CK}} \times 100\% \quad (1)$$

$$CA = \pi \times \left(\frac{D_{14}}{2}\right)^2 \quad (2)$$

$$MA = \pi \times \left(\frac{d_{14}}{2}\right)^2 \quad (3)$$

$$MP = \frac{MA}{CA} \times 100\% \quad (4)$$

$$MSP = \frac{MSAP}{CAP} \times 100\% \quad (5)$$

$$MSA = CA \times MSP_{14} \quad (6)$$

$$\Delta_K = \frac{(K_t - K_{CK})}{K_{CK}} \times 100\% \quad (7)$$

式①中 *DCK*、*D_t* 分别为对照、处理菌落反面直径; 式②、③中 *D₁₄*、*d₁₄* 分别为病原菌在第 14 天时反面菌落直径、正面菌丝直径; 式⑤中 *MSAP*、*CAP* 分别为微菌核区面积、菌落总面积的像素值; 式⑥中 *MSP₁₄* 为病原菌在第 14 天时微菌核区面积占菌落总面积比例; 式⑦中 *K_{CK}* 和 *K_t* 分别表示病原菌在以无盐分和添加盐分处理时 *CA*、*MA*、*MP*、*MSP*、*MSA* 的计算值。

2 结果与分析

2.1 pH 对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响

由表 1 可知, pH 对大丽轮枝菌菌落生长影响显著。供试大丽轮枝菌在 pH 5.5~9.5 时均可生长, 其中在 pH 7.0 时菌落生长速度最快, 第 14 天菌落直径达 60.7 mm, pH 增大或减小时菌落生长均有所减慢, 表明培养环境偏酸性或碱性均抑制大丽轮枝菌菌落生长。

由表 2 可知, pH 对大丽轮枝菌菌落形态和微菌核形成具有一定影响。当培养基 pH 在一定范围内偏碱性时, 大丽轮枝菌菌落总面积 *CA*、菌丝面积 *MA*、菌丝占菌落总面积比例 *MP* 均较 pH 7.0 时有所减少, 而大丽轮枝菌微菌核区占菌落总面积的比例 *MSP* 及微菌核区面积 *MSA* 则较

pH 7.0 时有所增加,且微菌核形成时间较 pH 7.0 时早 2 d。当大丽轮枝菌生长环境 pH 为 7.0~8.5 时,其菌落生长状况较好,微菌核形成

量较多。而当培养基在一定范围内偏酸性时,大丽轮枝菌菌落生长状况较 pH 7.0 时也略有下降,但微菌核产生量也明显减少。

表 1 pH 对大丽轮枝菌菌落直径的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Effect of pH on colony diameter of *V. dahliae*

pH	培养时间/d Culture time				
	6	8	10	12	14
5.5	25.0±0.0 bc	32.7±0.5 cd	39.3±0.5 de	46.7±0.5 c	58.3±0.8 c
6.0	25.7±0.8 ab	33.3±1.0 abc	40.8±1.7 bc	46.8±1.7 c	58.5±0.8 c
6.5	25.7±0.5 ab	33.7±0.8 abc	39.7±1.2 cd	47.3±0.5 bc	59.0±0.9 bc
7.0	26.5±1.5 a	34.3±1.0 a	42.3±1.4 a	50.3±0.8 a	60.7±0.5 a
7.5	25.8±1.0 ab	34.3±0.5 a	42.0±0.0 ab	49.8±0.4 a	60.3±0.5 a
8.0	25.3±0.8 abc	34.2±0.4 ab	41.2±0.8 ab	48.3±0.5 b	59.5±0.5 b
8.5	24.3±0.5 cd	32.8±1.2 bc	39.2±0.8 de	46.2±1.3 c	57.0±0.6 d
9.0	24.2±1.6 cd	31.5±1.9 de	38.0±1.3 e	44.8±1.7 d	56.5±0.5 d
9.5	23.5±1.2 d	30.5±1.4 e	38.0±1.1 e	44.2±1.2 d	55.5±0.5 e

注:同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

Note: Different letters in same column represent significant differences ($P<0.05$). The same as following table.

表 2 pH 对大丽轮枝菌菌丝生长及微菌核形成的影响(14 d)($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effect of pH on mycelium growth and microsclerotia formation of *V. dahliae* (14 d)

pH	菌落总面积/mm ² CA	菌丝 Mycelium		微菌核 Microsclerotia	
		菌丝面积/mm ² MA	菌丝占菌落 面积比例/% MP	微菌核区 面积/mm ² MSA	微菌核区占菌落 面积比例/% MSP
5.5	2 671.6±74.5 c	1 298.7±52.4 a	48.6±2.2 a	1 781.1±49.7 e	66.7±2.9 d
6.0	2 686.9±77.4 c	1 319.8±40.7 a	49.2±2.1 a	1 925.6±55.5 d	71.7±2.9 cd
6.5	2 733.1±82.9 bc	1 353.2±91.2 a	49.6±4.2 a	2 004.3±60.8 c	73.3±2.9 c
7.0	2 889.3±49.1 a	1 396.1±49.7 a	48.3±1.3 a	1 926.2±32.7 d	66.7±5.8 d
7.5	2 857.7±49.1 a	1 363.0±33.6 a	47.7±1.6 ab	2 143.2±36.8 b	75.0±5.0 c
8.0	2 779.3±51.2 b	1 314.5±183.7 a	47.3±6.5 ab	2 362.4±43.5 a	85.0±0.0 b
8.5	2 550.7±56.6 d	1 184.2±46.0 b	46.5±2.4 ab	2 338.2±51.9 a	91.7±2.9 a
9.0	2 506.1±48.6 d	1 104.1±32.2 b	44.1±1.8 b	2 339.0±45.3 a	93.3±2.9 a
9.5	2 418.2±47.7 e	961.9±34.8 c	39.8±2.0 c	2 337.6±46.1 a	96.7±2.9 a

2.2 盐质量浓度对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响

由表 3 可知,盐质量浓度对大丽轮枝菌菌落生长影响显著。供试大丽轮枝菌在 NaCl 质量浓度为 0~25 g·L⁻¹ 范围内均可生长,但高质量浓度 NaCl 可抑制大丽轮枝菌生长,相比无盐培养基(CK),含盐培养基上病原菌生长较慢。在培养 6 d 时,当盐分质量浓度小于 6 g·L⁻¹ 时,盐分对病原菌生长抑制较小,不同盐质量浓度之间菌落直径差异不显著($P>0.05$);当盐分质量浓度超过 8 g·L⁻¹ 时,显著抑制病原菌生长($P<0.05$)。随盐质量浓度增加,菌落直径减少。培养 14 d

时,加盐处理菌落直径较 CK 减少 1.6%~33.4%;培养 6~14 d 时,质量浓度为 25 g·L⁻¹ 的 NaCl 处理可使病原菌菌落直径较 CK 降低 31.5%~34.8%。

在含 NaCl 培养基上,大丽轮枝菌从第 8 天开始形成微菌核。随培养时间延长,微菌核逐渐增加。从表 4 可知,在培养 14 d 时,随培养基中 NaCl 质量浓度增大,大丽轮枝菌微菌核形成量增加,菌落中菌丝与微菌核的比例发生显著变化,病原菌菌丝占菌落总面积的比例由 CK 的 48.0% 下降至 9.0%,加盐处理较 CK 减少 4.5%~81.3%;微菌核区占菌落总面积比例(MSP)由

CK 的 53.3% 增加到 98.3%, 加盐处理较 CK 增加 15.6%~84.4%。在 CK 培养基上, 大丽轮枝

菌微菌核产生较晚, 至培养第 10 天开始形成微菌核。培养到 14 d, MSP 为 53.3%。

表 3 不同质量浓度 NaCl 对大丽轮枝菌菌落直径的影响

Table 3 Effect of different NaCl mass concentration on colony diameter of *V. dahliae*

mm

NaCl/ (g · L ⁻¹)	培养时间/d Culture time									
	6		8		10		12		14	
	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_D/\%$
CK (0)	25.8±0.4 a	—	34.3±0.8 a	—	42.5±0.5 a	—	50.3±1.0 a	—	61.3±0.5 a	—
1	25.5±0.8 a	-1.3	33.8±1.3 ab	-1.5	42.2±1.5 a	-0.8	49.3±1.0 ab	-2.0	60.3±1.2 b	-1.6
2	25.3±0.8 a	-1.9	33.3±0.8 bc	-2.9	41.3±1.0 ab	-2.7	48.8±1.6 b	-3.0	59.8±0.8 b	-2.4
4	25.3±0.5 a	-1.9	32.7±0.5 c	-4.9	41.2±1.2 ab	-3.1	48.3±0.5 b	-4.0	58.7±0.5 c	-4.3
6	25.2±0.4 a	-2.6	32.5±0.5 c	-5.3	40.3±1.0 b	-5.1	46.8±1.2 c	-7.0	58.3±0.5 c	-4.9
8	24.2±0.4 b	-6.5	31.5±0.5 d	-8.3	39.0±0.6 c	-8.2	46.5±1.0 cd	-7.6	56.7±0.5 d	-7.6
10	21.3±1.2 c	-17.4	30.2±1.2 e	-12.1	38.5±1.4 c	-9.4	45.5±0.8 d	-9.6	55.0±0.6 e	-10.3
15	20.5±1.2 c	-20.6	28.0±0.6 f	-18.4	36.3±0.5 d	-14.5	44.0±0.9 e	-12.6	54.8±1.3 e	-10.6
20	18.8±0.8 d	-27.1	27.3±0.8 f	-20.4	34.0±1.5 e	-20.0	40.8±1.2 f	-18.9	50.0±0.0 f	-18.5
25	16.8±0.4 e	-34.8	22.5±0.5 g	-34.5	28.0±0.9 f	-34.1	34.5±0.5 g	-31.5	40.8±1.0 g	-33.4

表 4 不同质量浓度 NaCl 对大丽轮枝菌菌丝生长及微菌核形成的影响 (14 d)

Table 4 Effect of different NaCl mass concentration on mycelium growth and microsclerotia formation of *V. dahliae* (14 d)

NaCl/ (g · L ⁻¹)	菌落总面积/ mm ² CA		菌丝 Mycelium				微菌核 Microsclerotia			
	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_{CA}/\%$	面积/mm ² MA		占菌落面积 比例/% MP		面积/mm ² MSA		占菌落面积 比例/% MSP	
			$\bar{x} \pm s$	$\Delta_{MA}/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_{MP}/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_{MSA}/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta_{MSP}/\%$
CK (0)	2 953.2±49.9 a	—	1 418.1±36.5 a	—	48.0±1.5 a	—	1 575.0±26.6 e	—	53.3±5.8 f	—
1	2 858.4±114.8 b	-3.2	1 309.0±26.0 b	-7.7	45.9±2.0 a	-4.5	1 762.7±70.8 d	11.9	61.7±2.9 ef	15.6
2	2 810.7±70.8 b	-4.8	1 065.9±67.1 c	-24.8	38.0±2.8 b	-21.0	1 873.8±47.2 c	19.0	66.7±5.8 e	25.0
4	2 702.0±47.4 c	-8.5	999.0±46.0 d	-29.6	37.0±1.7 b	-23.0	2 071.5±36.4 b	31.5	76.7±5.8 d	43.8
6	2 671.4±47.4 c	-9.5	898.7±21.5 e	-36.6	33.7±1.3 c	-29.9	2 181.6±38.7 a	38.5	81.7±2.9 cd	53.1
8	2 520.9±45.8 d	-14.6	630.4±23.1 f	-55.5	25.0±0.8 d	-47.9	2 184.8±39.7 a	38.7	86.7±7.6 bc	62.5
10	2 374.9±54.6 e	-19.6	370.8±65.7 g	-73.9	15.6±2.8 e	-67.5	2 216.6±51.0 a	40.7	93.3±2.9 ab	75.0
15	2 361.4±114.1 e	-20.0	319.4±13.1 h	-77.5	13.6±1.0 ef	-71.8	2 204.0±106.5 a	39.9	93.3±5.8 ab	75.0
20	1 962.5±0.0 f	-33.5	246.5±42.2 i	-82.6	12.6±2.1 f	-73.9	1 897.1±0.0 c	20.4	96.7±5.8 a	81.3
25	1 309.5±63.3 g	-55.7	117.4±25.0 j	-91.7	9.0±2.0 g	-81.3	1 287.7±62.2 f	-18.2	98.3±2.9 a	84.4

2.3 不同盐种类及质量浓度对大丽轮枝菌生长及微菌核形成的影响

由表 5 可知, 大丽轮枝菌菌落直径依不同盐种类有所差异。在培养 6~8 d 时, 除 CaCl₂ 外, 其余盐分对大丽轮枝菌均表现出抑制作用。随培养时间延长, 盐分抑制效果呈现较大差异, 与无盐培养基相比, 含有 CaCl₂ 的培养基可显著增加病原菌菌落直径。KCl 在培养初期对病原菌呈现轻微抑制作用, 而培养 10 d 后, 在质量浓度为 1~7 g · L⁻¹ 时, KCl 则表现出对菌落直径的轻微促进

作用。其余 3 种盐分均表现出明显抑制作用, 依次为 Na₂SO₄ > MgSO₄ > NaCl。从总体上看, 除 CaCl₂ 外, 硫酸盐对菌落大小的抑制作用大于氯化物盐类。

由表 6 可知, 多种盐分均对大丽轮枝菌菌丝生长产生显著影响。在培养 14 d 时, 当盐分质量浓度 ≥ 3.0 g · L⁻¹ 时, Na₂SO₄、MgSO₄ 和 NaCl 对菌落总面积产生显著的抑制作用 ($P < 0.05$), 而 CaCl₂ 对菌落总面积 (CA) 产生显著的促进作用 ($P < 0.05$), 且不同盐分间对 CA 大小的影响

随盐分质量浓度增加而差异显著。此外, $MgSO_4$ 和 $CaCl_2$ 对病原菌菌丝生长也有促进作用, 在 $7 g \cdot L^{-1}$ 质量浓度时, 其菌丝占菌落总面积的比例 (MP) 较 CK 培养基菌落最高增幅分别为 103.0% 和 61.9%。而 NaCl、KCl 和高质量浓度

的 Na_2SO_4 则显著抑制菌丝生长, 随盐质量浓度增加, 菌丝面积 (MA) 逐渐减小, 在 $9 g \cdot L^{-1}$ 质量浓度时, 其较 CK 培养基分别下降 66.3%、72.7% 和 69.8%。

表 5 不同盐分及质量浓度对大丽轮枝菌菌落直径的影响

Table 5 Effect of different salinity and mass concentration on colony diameter of *V. dahliae*

培养时间/d Culture time	质量浓度/ ($g \cdot L^{-1}$) Mass concentration	NaCl		KCl		Na_2SO_4		$MgSO_4$		$CaCl_2$	
		$\bar{x} \pm s$	$\Delta D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta D/\%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta D/\%$
6	CK (0)	21.3±0.5									
	1	21.2±0.4 ab	-0.8	21.2±1.0 ab	-0.8	20.5±0.5 bc	-3.9	20.2±0.4 c	-5.5	21.3±0.5 a	0.0
	3	20.5±0.8 bc	-3.9	21.2±0.8 ab	-0.8	19.8±0.4 c	-7.0	2±0.6 c	-6.2	21.3±0.5 a	0.0
	5	20.5±0.5 b	-3.9	20.2±0.4 b	-5.5	18.2±0.4 c	-14.8	18.3±0.5 c	-14.1	23.8±0.4 a	11.7
	7	19.8±0.4 b	-7.0	19.8±0.4 b	-7.0	18.2±0.4 c	-14.8	18.2±0.4 c	-14.8	24.5±0.8 a	14.8
	9	19.7±0.5 b	-7.8	19.7±1.0 b	-7.8	18.2±0.4 c	-14.8	18.0± c	-15.6	23.5±1.8 a	10.2
8	CK (0)	28.3±0.8									
	1	27.5±0.8 ab	-2.9	27.8±0.4 ab	-1.8	27.2±0.8 b	-4.1	27.5±1.0 ab	-2.9	28.3±1.0 a	0.0
	3	27.3±0.5 b	-3.5	27.8±0.8 b	-1.8	25.7±0.5 c	-9.4	27.3±0.5 b	-3.5	29.5±1.2 a	4.1
	5	27.2±0.4 c	-4.1	28.7±1.6 b	1.2	24.7±0.5 d	-12.9	26.8±1.0 c	-5.3	31.8±1.0 a	12.4
	7	27.0±0.9 c	-4.7	28.7±1.0 b	1.2	24.5±0.5 d	-13.5	26.5±1.4 c	-6.5	33.7±0.5 a	18.8
	9	26.8±0.4 bc	-5.3	27.3±0.8 b	-3.5	24.2±0.8 d	-14.7	25.7±0.5 c	-9.4	32.0±1.8 a	12.9
10	CK (0)	36.3±0.8									
	1	35.3±0.5 bc	-2.8	36.3±0.5 b		33.2±1.2 d	-8.7	34.8±0.8 c	-4.1	37.7±1.8 a	3.7
	3	35.3±0.5 c	-2.8	36.7±0.5 b	0.9	32.8±1.0 d	-9.6	33.0±0.9 d	-9.2	38.8±0.8 a	6.9
	5	34.5±1.0 c	-5.0	36.8±0.8 b	1.4	31.0±0.6 e	-14.7	32.8±0.8 d	-9.6	39.8±0.4 a	9.6
	7	34.2±0.8 c	-6.0	37.3±0.5 b	2.8	30.7±0.5 e	-15.6	32.3±1.5 d	-11.0	43.5±1.4 a	19.7
	9	33.5±2.1 bc	-7.8	34.2±1.0 b	-6.0	29.8±0.4 d	-17.9	32.0±1.7 c	-11.9	41.8±0.4 a	15.1
12	CK (0)	45.2±0.4									
	1	43.7±1.0 b	-3.3	45.3±0.5 a	0.4	39.8±0.4 c	-11.8	40.8±2.0 c	-9.6	45.8±1.0 a	1.5
	3	41.8±1.7 c	-7.4	45.5±1.5 b	0.7	39.8±1.2 d	-11.8	39.0±0.9 d	-13.7	47.3±0.5 a	4.8
	5	40.2±2.6 c	-11.1	45.7±0.8 b	1.1	38.8±1.3 c	-14.0	38.5±0.5 c	-14.8	48.0±1.3 a	6.3
	7	40.2±0.4 c	-11.1	46.2±0.4 b	2.2	36.5±0.8 e	-19.2	37.8±0.4 d	-16.2	52.5±0.5 a	16.2
	9	39.7±0.5 c	-12.2	41.3±1.0 b	-8.5	35.7±0.8 e	-21.0	37.8±1.0 d	-16.2	50.3±0.5 a	11.4
14	CK (0)	55.2±0.8									
	1	53.3±1.0 a	-3.3	55.3±0.5 a	0.3	53.3±2.6 a	-3.3	54.3±0.5 a	-1.5	55.3±2.1 a	0.3
	3	52.8±1.0 c	-4.2	55.7±1.0 b	0.9	51.2±0.4 d	-7.3	53.5±1.9 c	-3.0	60.2±0.4 a	9.1
	5	52.2±0.4 d	-5.4	55.8±1.0 b	1.2	48.7±0.5 e	-11.8	53.5±1.2 c	-3.0	62.8±1.0 a	13.9
	7	51.8±0.4 c	-6.0	57.3±0.8 b	3.9	48.0±0.6 d	-13.0	52.0±2.4 c	-5.7	63.8±0.4 a	15.7
	9	50.7±0.8 c	-8.2	54.8±0.4 b	-0.6	46.7±2.0 d	-15.4	50.5±0.8 c	-8.5	57.3±0.8 a	3.9

由表 6 还可以看出, 不同种类盐分均对大丽轮枝菌微菌核形成有促进作用。除添加量大于 $7 g \cdot L^{-1}$ 的 $CaCl_2$ 外, 其余盐分处理的 MSP 及 MSA 均显著增加, 说明各种盐分均可诱导微菌核生成, 其中, 氯化物 (NaCl 和 KCl) 的作用大于硫酸盐 (Na_2SO_4 和 $MgSO_4$)。此外, 添加 $MgSO_4$ 的培养基从第 6 天起便开始形成微菌核, 而 $CaCl_2$ 自第 12 天才开始形成微菌核, 其余 3 种盐处理均

在培养第 8 天起形成微菌核, 形成微菌核时间较无盐处理提前 2 d。

3 讨论

中国棉花黄萎病因 1935 年引进美棉而传入, 首先在涇阳等地区发病, 随后棉花黄萎病随种调运在全国迅速传播^[17]。微菌核是大丽轮枝菌抵御不良环境的休眠体。微菌核主要分布在棉田

表 6 不同盐分及质量浓度对大丽轮枝菌菌丝生长及微菌核形成的影响(14 d)

Table 6 Effect of different salinity and concentration on mycelium growth and microsclerotia formation of *V. dahliae* (14 d)

质量浓度/ (g · L ⁻¹) Mass concentration	盐 Salinity	菌落总面积/mm ² CA		菌丝 Mycelium				微菌核 Microsclerotia			
				面积/mm ² MA		占菌落面积 比例/% MP		面积/mm ² MSA		占菌落面积 比例/% MSP	
		$\bar{x} \pm s$	$\Delta CA / \%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta MA / \%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta MP / \%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta MSA / \%$	$\bar{x} \pm s$	$\Delta MSP / \%$
1	CK	2 389.4 ± 65.1 ab	—	1 150.7 ± 192.4 bc	—	48.1 ± 7.8 bc	—	46.7 ± 11.5 c	—	1 115.1 ± 30.4 d	—
	NaCl	2 233.6 ± 85.9 b	-6.5	1 064.2 ± 350.2 bc	-7.5	47.3 ± 14.5 bc	-1.7	63.3 ± 5.8 ab	35.7	1 414.6 ± 54.4 c	26.9
	KCl	2 403.7 ± 45.0 a	0.6	983.7 ± 246.0 c	-14.5	40.9 ± 10.2 c	-15.0	73.3 ± 11.5 a	57.1	1 762.7 ± 33.0 a	58.1
	Na ₂ SO ₄	2 237.3 ± 220.9 b	-6.4	2 192.6 ± 122.6 a	90.6	98.4 ± 4.8 a	104.4	51.7 ± 10.4 bc	10.7	11 55.9 ± 114.1 d	3.7
	MgSO ₄	2 317.6 ± 44.2 ab	-3.0	2 303.3 ± 34.9 a	100.2	99.4 ± 1.5 a	106.5	48.3 ± 2.9 bc	3.6	1 120.2 ± 21.4 d	0.5
	CaCl ₂	2 406.3 ± 177.5 a	0.7	1 256.3 ± 39.7 b	9.2	52.4 ± 3.5 b	8.9	63.3 ± 2.9 ab	35.7	1 524.0 ± 112.4 b	36.7
3	CK	2 389.4 ± 65.1 b	—	1 150.7 ± 192.4 c	—	48.1 ± 7.8 b	—	46.7 ± 11.5 c	—	1 115.1 ± 30.4 d	—
	NaCl	2 191.9 ± 81.8 c	-8.3	764.6 ± 200.6 d	-33.6	34.9 ± 9.3 c	-27.4	83.3 ± 5.8 ab	78.6	1 826.5 ± 68.2 c	63.8
	KCl	2 433.2 ± 90.8 b	1.8	945.7 ± 288.6 cd	-17.8	38.9 ± 12.4 c	-19.1	93.3 ± 5.8 a	100.0	2 271.0 ± 84.7 a	103.7
	Na ₂ SO ₄	2 055.3 ± 33.0 d	-14.0	2 002.1 ± 43.4 a	74.0	97.4 ± 3.1 a	102.5	56.7 ± 5.8 c	21.4	1 164.6 ± 18.7 d	4.4
	MgSO ₄	2 249.2 ± 154.1 c	-5.9	2 221.2 ± 151.5 a	93.0	98.8 ± 1.9 a	105.2	50.0 ± 10.0 c	7.1	1 124.6 ± 77.1 d	0.9
	CaCl ₂	2 841.8 ± 38.8 a	18.9	1 546.7 ± 174.2 b	34.4	54.4 ± 5.3 b	13.0	73.3 ± 5.8 b	57.1	2 084.0 ± 28.4 b	86.9
5	CK	2 389.4 ± 65.1 b	—	1 150.7 ± 192.4 c	—	48.1 ± 7.8 d	—	46.7 ± 11.5 c	—	1 115.1 ± 30.4 d	—
	NaCl	2 136.4 ± 33.6 d	-10.6	613.2 ± 121.8 d	-46.7	28.7 ± 5.6 e	-40.4	86.7 ± 5.8 ab	85.7	1 851.5 ± 29.2 b	66.0
	KCl	2 447.8 ± 86.4 b	2.4	485.5 ± 55.3 d	-57.8	19.9 ± 2.7 f	-58.7	96.7 ± 5.8 a	107.1	2 366.2 ± 83.5 a	112.2
	Na ₂ SO ₄	1 859.4 ± 39.3 e	-22.2	1 601.8 ± 53.3 b	39.2	86.2 ± 3.9 b	79.1	83.3 ± 5.8 b	78.6	1 549.5 ± 32.8 c	39.0
	MgSO ₄	2 247.8 ± 103.3 c	-5.9	2 205.9 ± 92.0 a	91.7	98.2 ± 4.3 a	104.1	51.7 ± 5.8 c	10.7	1 161.4 ± 53.4 d	4.2
	CaCl ₂	3 099.8 ± 96.3 a	29.7	2 109.9 ± 94.7 a	83.4	68.1 ± 4.1 c	41.6	33.3 ± 5.8 d	-28.6	1 033.3 ± 32.1 e	-7.3
7	CK	2 389.4 ± 65.1 c	—	1 150.7 ± 192.4 c	—	48.1 ± 7.8 c	—	46.7 ± 11.5 c	—	1 115.1 ± 30.4 e	—
	NaCl	2 109.2 ± 33.0 d	-11.7	507.0 ± 153.1 d	-55.9	24.1 ± 7.5 de	-49.9	93.3 ± 5.8 a	100.0	1 968.6 ± 30.8 b	76.5
	KCl	2 580.8 ± 74.4 b	8.0	493.8 ± 82.2 d	-57.1	19.1 ± 3.1 e	-60.3	98.3 ± 2.9 a	110.7	2 537.8 ± 73.1 a	127.6
	Na ₂ SO ₄	1 808.9 ± 47.7 e	-24.3	519.0 ± 149.7 d	-54.9	28.7 ± 8.2 d	-40.4	93.3 ± 5.8 a	100.0	1 688.3 ± 44.5 c	51.4
	MgSO ₄	2 126.6 ± 202.7 d	-11.0	2 070.0 ± 121.6 b	79.9	97.7 ± 5.6 a	103.0	58.3 ± 2.9 b	25.0	1 240.5 ± 118.2 d	11.2
	CaCl ₂	3 198.7 ± 40.7 a	33.9	2 491.9 ± 91.7 a	116.6	77.9 ± 3.3 b	61.9	26.7 ± 5.8 d	-42.9	853.0 ± 10.9 f	-23.5
9	CK	2 389.4 ± 65.1 b	—	1 150.7 ± 192.4 b	—	48.1 ± 7.8 c	—	46.7 ± 11.5 b	—	1 115.1 ± 30.4 d	—
	NaCl	2 015.6 ± 65.2 c	-15.6	388.2 ± 67.9 c	-66.3	19.2 ± 3.0 d	-60.1	96.7 ± 5.8 a	107.1	1 948.4 ± 63.1 b	74.7
	KCl	2 360.4 ± 34.9 b	-1.2	314.3 ± 19.9 c	-72.7	13.3 ± 0.9 e	-72.3	98.3 ± 2.9 a	110.7	2 321.0 ± 34.4 a	108.2
	Na ₂ SO ₄	1 712.1 ± 144.5 d	-28.3	347.0 ± 36.1 c	-69.8	20.3 ± 1.5 d	-57.9	96.7 ± 2.9 a	107.1	1 655.0 ± 139.7 c	48.4
	MgSO ₄	2 002.4 ± 66.9 c	-16.2	1 923.6 ± 42.6 a	67.2	96.1 ± 2.4 a	99.7	93.3 ± 5.8 a	100.0	1 868.9 ± 62.4 b	67.6
	CaCl ₂	2 580.8 ± 74.4 a	8.0	1 837.4 ± 172.9 a	59.7	71.2 ± 6.3 b	47.9	23.3 ± 5.8 c	-50.0	602.2 ± 17.3 e	-46.0

土壤 0~40 cm 耕作层^[9], 可随病土移动, 耕作时随牲畜、农具、人手传播及灌溉水流扩散, 导致棉花黄萎病大面积发生^[18]。作为病原菌在侵染植物前存在的主要介质之一, 土壤性质对大丽轮枝菌微菌核的形成与活性有重要影响。杨家荣等^[12]研究发现, 土壤温度、湿度、pH 和有机质影响棉花黄萎病菌微菌核存活。López-Escudero 等^[17]研究也表明, 土壤湿度影响大丽轮枝菌微菌核在土壤中的形成及存活。纪文飞等^[19]发现, 棉花黄萎病菌在 pH 为 3~10 的 PDA 培养基上均能生长, pH 为 5~8 时, 其菌丝生长最快。白应

文等^[20]研究发现, 适合于棉花黄萎病菌大量产生微菌核的条件为: 基础改良培养基(BMM), pH 9.5~11.5, 温度为 20 ℃。此外, Mohammadi 等^[21]和 Saadatmand 等^[22]研究发现, 增加土壤盐分质量浓度可促进大丽轮枝菌对阿月浑子根部的侵染。白霜等^[23]研究发现, 在新疆棉田含盐量不同的土壤中, 棉花黄萎病病株根区土壤中可溶性总盐质量浓度高于无病害健株。即土壤含盐量与棉花黄萎病发生存在一定关系, 但目前尚无盐分对大丽轮枝菌微菌核形成影响的报道。

本研究发现, 基质中盐分质量浓度及盐分种

类显著影响大丽轮枝菌菌丝生长及微菌核形成。供试大丽轮枝菌在盐质量浓度为 $0 \sim 25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时均可生长,增加盐分质量浓度均可抑制大丽轮枝菌丝生长,在盐分质量浓度为 $2 \sim 15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可显著促进大丽轮枝菌微菌核形成;氯化物 (NaCl 和 KCl) 及硫酸盐 (Na_2SO_4 和 MgSO_4) 均可显著促进大丽轮枝菌微菌核形成,而 CaCl_2 则显著促进菌丝生长,并在质量浓度大于 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时抑制微菌核形成。本研究还发现,在培养基 pH 为 $8.0 \sim 9.5$ 时,大丽轮枝菌微菌核大量形成。新疆属内陆盐土区,土壤 pH 及盐分质量浓度均较高,且主要为氯化物—硫酸盐类型盐土^[13-14,24]。具备大丽轮枝菌微菌核形成所需的 pH 及盐分条件。故根据本研究结果可以推知,新疆土壤特殊的 pH 及盐分条件促进了大丽轮枝菌微菌核大量形成。由于微菌核抗逆性强,会在棉田土壤中长时间存活,致使土壤中黄萎病菌数量大,黄萎病发生的潜在风险大、概率高,进而导致新疆棉区棉花黄萎病发病率较高、长期流行及难以防治。

本研究从盐分及 pH 对大丽轮枝菌微菌核形成的影响角度,对新疆棉区棉花黄萎病大面积发生的原因及长期流行机制提出了新证据。但该推断需要进一步的土壤微菌核检测结果证实。依据形成微菌核的能力,通常将大丽轮枝菌按菌落形态分为菌丝型、丝核型及菌核型菌株^[24]。研究表明,新疆地区的棉花黄萎病菌大丽轮枝菌大多为中等致病类型,菌落类型以丝核型和菌核型为主,微菌核形成量较多^[25-26],也是从另一角度对本研究所得上述推论的佐证。

此外,微菌核的快速大量制备是进一步研究其致死温度、发育生物学等的基础^[21]。获得大量微菌核的培养方法对棉花黄萎病防治研究有重要意义。而目前尚无简单易行的微菌核快速大量制备方法。故本研究的另一重要价值是:寻找到大丽轮枝菌微菌核大量产生的培养基条件,为微菌核相关研究中微菌核的大量制备提供简易的培养方法。

参考文献 Reference:

- [1] ZHANG W W, JIAN G L, JIANG T F, *et al.* Cotton gene expression profiles in resistant *Gossypium hirsutum* cv. Zhongzhimian KV1 responding to *Verticillium dahliae* strain V991 infection [J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(10): 9765-9774.
- [2] 张绪振, 张树琴, 陈吉棣, 等. 我国棉花黄萎病菌“种”的鉴定 [J]. *植物病理学报*, 1981, 11(3): 149-156.
ZHANG X ZH, ZHANG SH Q, CHEN J D, *et al.* Identification of *Verticillium* wilt pathogen of cotton in China [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1981, 11(3): 149-156 (in Chinese with English abstract).
- [3] XU F, YANG L, ZHANG J, *et al.* Effect of temperature on conidial germination, mycelial growth and aggressiveness of the defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* from cotton in China [J]. *Phytoparasitica*, 2012, 40(4): 319-327.
- [4] 林玲, 张昕, 邓晟. 棉花黄萎病研究进展 [J]. *棉花学报*, 2014, 26(3): 260-267.
LIN L, ZHANG X, DENG SH. Research advances in cotton verticillium wilt [J]. *Acta Gossypii Sinica*, 2014, 26(3): 260-267 (in Chinese with English abstract).
- [5] HU X P, BAI Y W, CHEN T, *et al.* An optimized method for in vitro production of *Verticillium dahliae* microsclerotia [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, 136(2): 225-229.
- [6] 王新艳, 张丹丹, 桂月晶, 等. 大丽轮枝菌致病性相关突变体快速筛选体系的建立 [J]. *中国农业科学*, 2015, 48(14): 2747-2756.
WANG X Y, ZHANG D D, GUI Y J, *et al.* Construction of a rapid screening system of pathogenicity-related mutants in *Verticillium dahliae* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(14): 2747-2756 (in Chinese with English abstract).
- [7] 田黎, 王克荣, 陆家云. 多菌灵、三环唑对大丽轮枝菌微菌核、黑色素形成及致病力的影响 [J]. *植物病理学报*, 1998, 28(3): 263-268.
TIAN L, WANG K R, LU J Y. Effect of carbendazim and tricyclazole on microsclerotia and melanin formation of *Verticillium dahliae* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1998, 28(3): 263-268 (in Chinese with English abstract).
- [8] WILHELM S. Longevity of *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field [J]. *Phytopathology*, 1955, 45: 180-181.
- [9] 贾涛, 杨家荣, 邢宏宜, 等. 棉花黄萎病菌在土壤、植株微生态系中的分布 [J]. *中国农学通报*, 2005, 21(3): 275-276.
JIA T, YANG J R, XING H Y, *et al.* The distribution of *Verticillium dahliae* in cotton in field ecological system [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(3): 275-276 (in Chinese with English abstract).
- [10] 商文静, 魏锋, 冯小军, 等. 棉田大丽轮枝菌微菌核的空间分布及其抽样技术 [J]. *西北农业学报*, 2014, 23(4): 192-197.
SHANG W J, WEI F, FENG X J, *et al.* Spatial pattern and sampling method for microsclerotia of *Verticillium dahliae* in soil of cotton field [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2014, 23(4): 192-197 (in Chinese with English abstract).
- [11] 商文静, 陈婷, 白应文, 等. 大丽轮枝菌微菌核的萌发条

- 件及致死温度[J]. 菌物学报, 2013, 32(6): 986-992.
- SHANG W J, CHEN T, BAI Y W, *et al.* Germination condition and lethal temperature for microsclerotia of *Verticillium dahliae* [J]. *Mycosystema*, 2013, 32(6): 986-992 (in Chinese with English abstract).
- [12] 杨家荣, 商鸿生, 高立强. 土壤环境因素对棉花黄萎病菌微菌核存活的影响[J]. 植物病理学报, 2004, 34(2): 180-183.
- YANG J R, SHANG H SH, GAO L Q. The effect of soil habitat factors on survival of microsclerotia of *Verticillium dahliae* of cotton [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2004, 34(2): 180-183 (in Chinese with English abstract).
- [13] 刘 蕾. 新疆土壤盐分的组成和分布特征[J]. 干旱环境监测, 2009, 23(4): 227-229.
- LIU L. Constitute and distributing character of salinity in soil in Xinjiang [J]. *Arid Environmental Monitoring*, 2009, 23(4): 227-229 (in Chinese with English abstract).
- [14] 李晓明, 杨劲松, 刘梅先, 等. 南疆膜下滴灌棉花花铃期土壤盐分分布研究[J]. 土壤, 2011, 43(2): 289-292.
- LI X M, YANG J S, LIU M X, *et al.* Study on soil salt distribution with drip irrigation under mulch in cotton boll period in south Xinjiang [J]. *Soils*, 2011, 43(2): 289-292 (in Chinese with English abstract).
- [15] 张丽萍, 宋玉萍, 岳永亮, 等. 棉花黄萎病发生时间动态及与菌量和菌系致病性的关系[J]. 新疆农业科学, 2014, 51(8): 1468-1473.
- ZHANG L P, SONG Y P, YUE Y L, *et al.* Seasonal dynamic cotton *Verticillium dahliae* wilt, correlation analyses between incidence and inoculum density and virulence of strains [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2014, 51(8): 1468-1473 (in Chinese with English abstract).
- [16] 程丽娟, 薛泉宏, 韦革宏, 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, WEI G H, *et al.* Experimental Techniques of Microbiology [M]. Xi'an: World Press Company, 2000: 383-384 (in Chinese with English abstract).
- [17] LÓPEZ-ESCUADERO F J, BLANCO-LPEZ M A. Effects of drip irrigation on population of *Verticillium dahliae* in Olive orchards [J]. *Journal of Phytopathology*, 2005, 153(4): 238-239.
- [18] 沈其益. 棉花病害基础研究与防治[M]. 北京: 科学出版社, 1992: 128-137.
- SHEN Q Y. Cotton Disease—basic Research and Protection [M]. Beijing: Science Press, 1992: 128-137 (in Chinese).
- [19] 纪文飞, 高智谋, 曹 君, 等. 棉花黄萎病菌菌丝生长和产孢量的影响因素研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(17): 4330-4331.
- JI W F, GAO ZH M, CAO J, *et al.* Effect of temperature, pH and nutrient on the mycelia growth and conidial production of *Verticillium dahliae* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2006, 34(17): 4330-4331 (in Chinese with English abstract).
- [20] 白应文, 胡东芳, 胡小平, 等. 大丽轮枝孢微菌核的形成条件[J]. 菌物学报, 2011, 30(5): 695-701.
- BAI Y W, HU D F, HU X P, *et al.* Formation conditions for microsclerotia of *Verticillium dahliae* [J]. *Mycosystema*, 2011, 30(5): 695-701 (in Chinese with English abstract).
- [21] MOHANNADI A H, BANIHASHEMI Z, MAFTOUN M. Interaction between salinity stress and *Verticillium* wilt disease in three pistachio rootstocks in a calcareous soil [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2007, 30(2): 241-252.
- [22] SAADATMAND A R, BANIHASHEMI Z, SEPA-SKHAH A R. Soil Salinity and water stress and their effect on susceptibility to *Verticillium* wilt disease, ion composition and growth of pistachio [J]. *Journal of Phytopathology*, 2008, 156(5): 287-292.
- [23] 白 霜, 薛泉宏, 赵邑尘, 等. 新疆棉区不同含盐土壤棉花健株与黄萎病根区放线菌研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2009, 37(7): 183-190.
- BAI SH, XUE Q H, ZHAO Y CH, *et al.* Study on actinomycetic ecology between healthy and diseased plants' rhizosphere with different salt contents in Xinjiang [J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2009, 37(7): 183-190 (in Chinese with English abstract).
- [24] 田秀明. 山西棉花黄萎病菌致病力分化与其类型和生理的关系[J]. 植物保护, 1995, 21(3): 8-10.
- TIAN X M. Pathogenicity differentiation in *Verticillium dahliae* relation to their types and physiology in Shanxi province [J]. *Plant Protection*, 1995, 21(3): 8-10 (in Chinese with English abstract).
- [25] 李国英, 霍向东, 田新莉, 等. 新疆棉花黄萎病菌的培养特性及致病性分化的研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2000, 4(1): 9-15.
- LI G Y, HUO X D, TIAN X L, *et al.* A study on culturing characters and pathogenic differentiation of *Verticillium dahliae* from cotton in Xinjiang [J]. *Journal of Shihezi University (Natural Science Edition)*, 2000, 4(1): 9-15 (in Chinese with English abstract).
- [26] 努尔孜亚·亚力买买提, 刘海洋, 玛依拉·吐拉普, 等. 新疆棉花黄萎病菌生物学特性及致病性分化研究[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(6): 1157-1161.
- Nuerziya · yalimaimaiti, LIU H Y, Mayila · tulapu, *et al.* Study on the biological characteristics and pathogenicity differentiation of cotton *Verticillium dahliae* strains in Xinjiang [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2010, 47(6): 1157-1161 (in Chinese with English abstract).

Effect of pH and Salinity on Microsclerotia Formation of *Verticillium dahliae*

XUE Lei^{1,2}, XU Wanli³, GU Meiyang⁴, WANG Jiantao⁵,
LIU Xiangchun⁵ and XUE Quanhong⁵

(1. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China; 2. Technology Center, China Tobacco Shaanxi Industrial Co. Ltd., Xi'an 710065, China; 3. Institute of Soil and Fertilizer & Agricultural Water-Saving, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Urumqi 830091, China; 4. Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China; 5. College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract Microsclerotia produced by *Verticillium dahliae* are the source of Verticillium wilt disease in cotton and are persisted in the soil as the resting structure of this pathogenic fungus. We determined the effect of pH and salinity on *V. dahliae* microsclerotia formation, which is important for preventing the occurrence of Verticillium wilt disease. In this study, the effects of salinity (mass concentration and type) and pH on *V. dahliae* microsclerotia formation were studied by measuring mycelium growth in altered culture mediums. Colony growth of *V. dahliae* was inhibited at acidic and alkaline pH 5.5–9.5 levels and optimal at pH 7.0. *Verticillium dahliae* microsclerotia formation was enhanced at alkaline pH, and the area of microsclerotia was 22.6% larger under pH 8.0 than pH 7.0. Mycelium growth and microsclerotia formation of *V. dahliae* were also affected by salinity concentration. With a higher mass concentration of NaCl in the culture medium, *V. dahliae* colony growth and mycelium area were inhibited and decreased, respectively, whereas microsclerotia formation was enhanced. The area of microsclerotia in the culture medium with 10 g · L⁻¹ of NaCl was 40.7% larger than that in the medium without NaCl. *Verticillium dahliae* growth was also affected by salt type. With the increasing concentration of chloride (i. e., NaCl, KCl) or sulfate (i. e., Na₂SO₄, MgSO₄) salts in the culture medium, *V. dahliae* microsclerotia formation was increased. In contrast, mycelium growth was enhanced in the presence of CaCl₂. Additionally, *V. dahlia* microsclerotia formation was inhibited at mass concentrations of CaCl₂ greater than 7 g · L⁻¹. The results indicated that microsclerotia formation of *V. dahlia* was enhanced under alkaline pH or high salinity.

Key words Verticillium wilt; Cotton; *Verticillium dahliae*; Microsclerotia; pH; Salinity

Received 2016-07-22 **Returned** 2016-08-25

Foundation item The National Natural Science Foundation of China (No. 31460148, No. 41261065); the Key Sci-tech Project of the “12th Five-year-Plan” of China (No. 2012BAD05B03).

First author XUE Lei, male, doctoral student. Research area: microbial resources and utilization. E-mail: xuelei@nwsuaf.edu.cn

Corresponding author XUE Quanhong, male, professor, doctoral supervisor. Research area: microbial resources and utilization. E-mail: xuequanhong123@163.com

GU Meiyang, female, associate research fellow. Research area: microbial resources and utilization. E-mail: gmyxj2008@163.com