

DOI: 10.5846/stxb201412052416

张亚楠, 王兴祥, 李孝刚, 徐文华. 连作对棉花抗枯萎病生理生化特性的影响. 生态学报, 2016, 36(14): - .

Zhang Y N, Wang X X, Li X G, Xu W H. Effects of continuous cropping on physiological and biochemical resistance of cotton to *Fusarium* wilt. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(14): - .

连作对棉花抗枯萎病生理生化特性的影响

张亚楠¹, 王兴祥^{1,3}, 李孝刚^{1,*}, 徐文华²

1 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室, 南京土壤研究所, 南京 210008

2 江苏沿海地区农业科学研究所, 盐城 224002

3 江西省红壤生态研究重点实验室, 中国科学院红壤生态实验站, 鹰潭 335211

摘要: 连作障碍引起棉花的产量和品质下降, 严重制约着我国棉花产业的可持续发展。枯萎病作为典型的土传真菌病害, 一直是困扰我国棉花生产的两大病害之一。研究采用室内盆栽试验, 通过接种棉花枯萎病菌, 研究不同连作年限(0、5 和 15 年)土壤对棉花生长状况及体内超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、过氧化物酶(POD)活性、可溶性蛋白和丙二醛(MDA)含量的影响, 进而探讨其对棉花抗枯萎病性能的影响。研究结果表明: 与非连作土壤相比, 连作土壤显著影响棉花的生长, 导致棉花幼苗鲜重、主根长、株高降低, SOD 和 CAT 活性降低, 可溶性蛋白和丙二醛(MDA)含量升高, 抗病品种中棉 38 的 POD 活性无显著变化, 但耐病品种南农 10 号的 POD 活性明显提高。说明连作降低了棉花对枯萎病菌的抗氧化酶反应, 加重了棉花的膜质过氧化程度, 进而降低了棉花对枯萎病的抗性。

关键词: 连作; 棉花; 枯萎病菌; 抗氧化酶; 抗病性

Effects of continuous cropping on physiological and biochemical resistance of cotton to *Fusarium* wilt

ZHANG Yanan¹, WANG Xingxiang^{1,3}, LI Xiaogang^{1,*}, XU Wenhua²

1 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

2 Institute of Agricultural Sciences in the Coastal Area Jiangsu Province, Yancheng 224002, China

3 Jiangxi Key Laboratory of Ecological Research of Red Soil, Experimental Station of Red Soil, Chinese Academy of Sciences, Yingtan 335211, China

Abstract: Cotton is an economically important crop worldwide. In the primary cotton-producing regions of China, it is increasingly grown repeatedly on the same land, because of the development of effective methods for control of the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) using transgenic insect-resistant cotton varieties. However, consecutive cropping has resulted in continuous declines in yield and quality as a consequence of increasing disease pressure. Cotton *Fusarium* wilt, a vascular disease caused by soil-borne *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, is a major constraint on cotton production throughout the world. In this study, a pot experiment was conducted to investigate the physiological and biochemical resistance of cotton to *F. oxysporum* in different soils under continuous cropping, and to provide a scientific explanation for the increase in cotton disease incidence in continuous cropping schema. Two cotton cultivars (Z-38, N-10) with different levels of resistance to *F. oxysporum* were used, and continuous-cropping soils were collected from two cotton fields that had been continuously cropped with cotton for 5 y and 15 y, respectively, with the soil from a field not previously used in cotton-cropping used as the control. The pot experiment was conducted in a plant growth chamber at 30 °C/25 °C, 14 h light/8 h dark, and 60 - 90% relative humidity, with three repetitions. After culturing for 20 d, the pots were inoculated

基金项目: 江苏省自然科学基金青年项目(BK2012498); 国家自然科学基金项目(41201281, 41371290)

收稿日期: 2014-12-05; **网络出版日期:** 2015-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xgli@issas.ac.cn

with *F. oxysporum* spores (1.0×10^7 cfu/mL). Plant samples were collected prior to inoculation (day 0) and at 2 d, 6 d, and 10 d after inoculation. The cotton plants were separated into their root and shoot portions to measure the fresh root and shoot weight, root length, and plant height, and then rapidly frozen at -80°C for use in biochemical analyses. The soluble protein and malondialdehyde (MDA) contents, and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and peroxidase (POD) were measured in the cotton leaves. The results showed that continuous-cropping soils significantly inhibited the growth of cotton seedlings. The fresh shoot weights of the N-10 and Z-38 plants in the 15 y cropping soils were substantially reduced, by 39.69% and 26.91%, respectively, compared to the control. Root weights showed a decreasing trend with prolonged cropping time. The root lengths of the Z-38 and N-10 plants were 16.33% and 21.67% lower, respectively, in the 15 y cropping soils, than in the control. Furthermore, continuous-cropping soils significantly inhibited the vertical growth of the cotton plants. Compared to the control, continuous-cropping soils significantly increased the soluble protein content at 0 d, 2 d, and 6 d after inoculation. Prior to inoculation, SOD and CAT activities increased in the Z-38 plants, but decreased in the N-10 plants as the number of cropping years increased. After inoculation with *F. oxysporum*, the SOD and CAT activities in both cotton cultivars decreased as the number of cropping years increased. Continuous-cropping soils strongly enhanced the activity of POD in the N-10 plants at 0 d, 2 d, and 10 d of *F. oxysporum* incubation, but had no effect on Z-38. Continuous-cropping soils significantly enhanced the MDA contents of both cultivars after inoculation with *F. oxysporum*. In summary, the continuous-cropping soils significantly affected the activities of the antioxidant enzymes of cotton cultivars, and increased the degree of lipid peroxidation, resulting in a decline in the resistance of cotton to *F. oxysporum*.

Key Words: continuous cropping; cotton; *Fusarium oxysporum*; antioxidant enzymes; disease resistance

棉花 (*Gossypium hirsutum* L.) 是我国重要的经济作物和纺织原料。由于耕地资源日益紧张, 以及棉产区产业化发展的需求, 原有轮作倒茬种植方式难以为继, 导致棉花连作日益严重, 部分植棉区连作面积达到 60%—70%, 最长连作年限达 30a。随着连作年限的延长, 棉花出现了大量死苗、生长不良、病虫害频发、早衰严重等问题, 严重影响了棉花产量和品质, 已成为我国棉花生产的一大制约因素^[1]。枯萎病为棉花生产中的世界性病害, 是由尖孢镰刀菌萎蔫专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) 引起的维管束病害, 靠土壤传播, 防治难度较大, 一旦发生, 轻者致使棉花产量下降、纤维品质变劣、重者可造成绝产, 一直是困扰我国棉花生产的难题^[2]。目前在连作对土壤理化性质、土壤酶活和土壤微生物的影响等方面已有大量研究^[3-5], 但连作后棉花对枯萎病抗性的变化鲜有报道。

到 2013 年, 我国有 750 万农户种植 420 万 hm^2 的 *Bt* 抗虫棉, 种植面积已达棉花种植总面积的 90%, 平均每户农民种植 0.5 hm^2 的 *Bt* 棉花^[6]。由于抗虫棉的大面积推广应用, 棉铃虫的危害得到了有效控制, 但是抗虫棉育种重视了抗虫与抗黄 (萎病), 忽略了抗枯 (萎病) 的培育^[7]。特别是在长年连作棉区, 棉花枯萎病菌逐年积累, 危害逐显突出。由于抗虫基因的导入, 导致一些生育性状的改变^[8], 造成转基因抗虫棉的抗病性较常规棉差, 可能是引起连作棉花抗病性下降的重要因素之一^[9-10]。另外, 长期连作引起棉田土壤某些物理、化学性质的恶化、微生物群落失衡, 进而可以引起植物体内活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 水平升高积累过多, 影响超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 的活性^[11]。SOD、POD 和 CAT 作为细胞膜系统的保护酶, 可在逆境胁迫时, 参与活性氧清除及酚类、木质素和植保素等抗病相关物质的合成, 能抵御体内 ROS 及氧自由基对细胞膜系统的伤害, 增强植物对病害的抵抗能力, 是植物忍耐外界不良环境的机理之一^[12-13]。因此, 土壤环境的改变势必会引起棉花抗病性能的变化。许多学者对多种植物感病后上述各种酶活性的变化规律进行研究, 发现其活性与植物抗病性有密切关系^[12, 14]。

因此, 本文通过研究不同连作年限条件下棉花生长及其抗氧化酶活性和膜质过氧化产物对枯萎病菌侵染

的响应差异,以期从棉花对枯萎病菌的生理生化响应的角度探讨连作棉花发病率上升的问题,从而为解决棉花连作问题提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验用土壤采自江苏省盐城市步凤镇盐城沿海地区农科所农场(33°37'N, 120°37'E)。选取连续种植棉花 5a(L5)和 15a(L15)的棉田,于 2014 年 4 月多点采集表层土(0—20cm),并采集棉田周边近 5a 未种棉花的农田土壤(玉米/大豆-大麦轮作)作为对照(CK)。土样采集后,立即带回实验室,去除动植物残体、石块后,过 2mm 筛,用于盆栽试验。采用平板培养法测定 CK、L5 和 L15 土壤中枯萎病菌的数量,分别为 0.4×10^3 、 2×10^3 、 11×10^3 cfu/g 土。同时分取一部分土样,测定土壤基本理化性质(表 1)。

表 1 不同连作年限土壤的理化性质
Table 1 The basic physical and chemical properties of different soils

土壤 Soil	有机质 Organic matter/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	全钾 Total potassium/ (g/kg)	碱解氮 Available nitrogen/ (mg/kg)	速效磷 Available phosphorus/ (mg/kg)	速效钾 Available potassium/ (mg/kg)	pH
CK	14.23	0.99	0.78	17.80	77.18	8.49	175.00	7.29
L5	14.96	0.96	0.84	17.31	69.83	9.66	156.67	8.33
L15	15.20	0.97	0.85	17.18	66.15	8.40	182.50	8.20

供试棉花品种:抗枯萎病品种中棉 38(Z-38)和耐枯萎病品种南农 10 号(N-10),均为江苏棉区普遍种植的杂交转基因抗虫棉。棉花种子由江苏沿海地区农业科学研究所提供。

本研究使用的棉花枯萎病菌广泛分布于长江和黄河流域棉区,属于棉花枯萎病 7 号生理小种,由中国农业科学院棉花研究所提供。菌种经 PDA 培养基活化(30℃)5d 后,孢子转入 PDA 液体培养基,摇床培养 48h(30℃,180r/min),四层无菌纱布过滤,无菌水稀释,使孢子液浓度达到约 1.0×10^7 cfu/mL。

试验于室内人工气候培养箱内进行。将不同连作年限的土壤分装在盆钵中,每盆 400g。挑选饱满一致的棉花种子,50%的酒精浸泡 5min,无菌蒸馏水冲洗 5 次,每盆播 2 粒,置于人工气候箱内培养,光照 14h(30℃)、黑暗 10h(25℃),湿度 60%—90%,每天及时浇水。待子叶长出后定苗,每盆定植 1 株。棉花生长至三叶期时,用无菌刀片划切伤根并接种棉花枯萎病菌孢子悬液 5mL,补充水分保持湿度。两个棉花品种分别设置 3 个不同土壤处理:连作 5 年土壤(L5)、连作 15 年土壤(L15)以及非连作土壤(CK),每个处理 3 次重复,每个重复 5 盆,共 90 盆。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 棉花样品采集

分别在接菌前(0d)以及接菌后第 2d、6d 和 10d 采集棉花植株样品,采样时每个处理随机选 3 株,将棉花幼苗连带土壤从盆子小心取出,浸入水中 5—10min,流水将根部土壤小心冲洗干净,尽量不损坏根部,无菌双蒸水冲洗 2—3 次,置于-80℃冰箱保存,用于测定生理生化指标。并测定第 10d 采集的棉花样品的株高、主根长、地上鲜重和根系鲜重。

1.2.2 棉花生理生化指标测定

称取 0.5g 叶片,置于预冷的研钵中,加预冷的 4.5mL 磷酸盐缓冲液(0.1mol/mL, pH7.2),在冰浴条件下研磨制备成 10%的匀浆,3500r/min 离心 10min 后,取上清液待测。可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法^[15],超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用黄嘌呤氧化酶法^[16],过氧化氢酶(CAT)活性测定采用可见光分光光度法^[17],过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[15],丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸法^[18]。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 软件处理数据,用 SPSS 16.0 软件进行方差分析和 LSD 多重比较法进行统计分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 连作土壤对棉花幼苗生长的影响

由图 1 可知,与对照非连作土壤相比,棉花枯萎病菌接种 10d 后,连作土壤中棉花长势较差。长期连作土壤(L15)显著降低了棉花地上鲜重,南农 10 号和中棉 38 地上鲜重分别比对照降低 39.69%、26.91%。随着连作年限的延长,根系鲜重呈下降趋势。连作土壤也显著抑制棉花主根的生长,种植在连作 5a(L5)、15a(L15)土壤中的南农 10 号主根长分别比对照降低 21.67%和 28.33%,中棉 38 主根长分别比对照降低 18.67%和 16.33%。同时,连作土壤也显著影响了棉花幼苗株高。

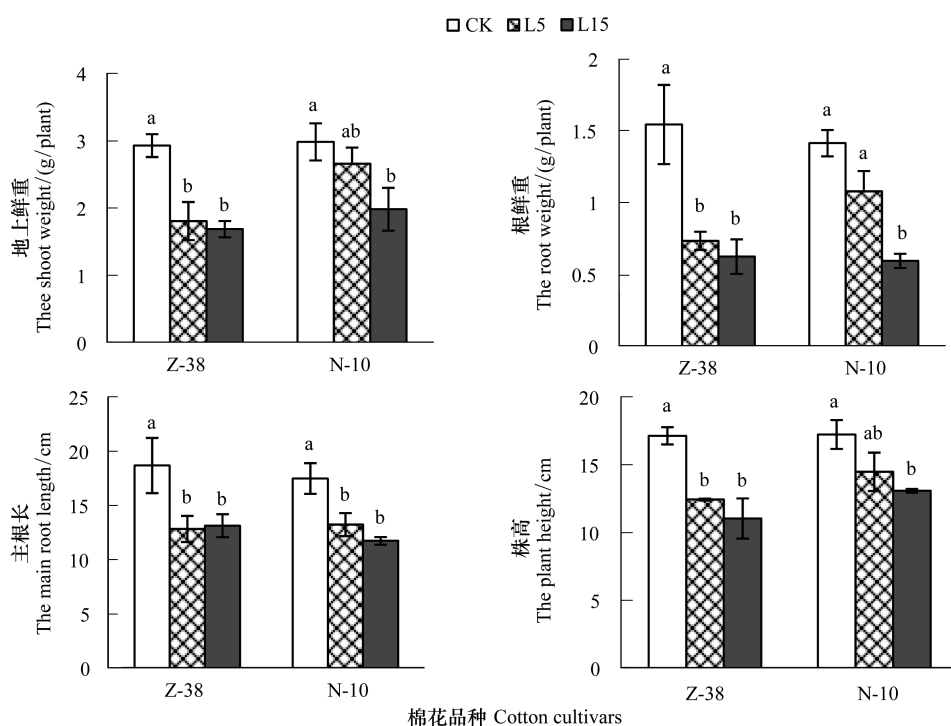


图 1 连作土壤对棉花幼苗生长的影响

Fig.1 Effects of continuous cropping soils on the cotton seedling growth

不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)

2.2 连作土壤对棉花可溶性蛋白含量的影响

由图 2 可以看出,病原菌接种前(第 0 d),连作土壤中两种棉花体内可溶性蛋白的含量较高,种植在连作 5a(L5)和连作 15a(L15)土壤中的中棉 38 可溶性蛋白浓度分别比对照高 30.72%、91.27%,南农 10 号分别比对照高 42.74%、35.48%。病原菌接种后,第 2d 到第 6d,中棉 38 的可溶性蛋白含量总体随连作年限增加而升高,种植在连作土壤(L5 和 L15)中的南农 10 号可溶性蛋白浓度显著高于对照。第 10d 中棉 38 可溶性蛋白含量在连作土壤处理和对照之间无显著差异。

2.3 连作土壤对棉花抗氧化酶活性的影响

由图 3 可知,枯萎病菌接种前(第 0d),中棉 38 的 SOD 活性随土壤连作年限的延长显著升高,但是南农 10 号的 SOD 活性则随着土壤连作年限延长显著降低。接菌后第 2d 到 6d,两个棉花品种的 SOD 活性均随土壤连作年限的延长而降低,且不同连作年限土壤处理间均有显著性差异。接菌后 10d,南农 10 号 SOD 活性在

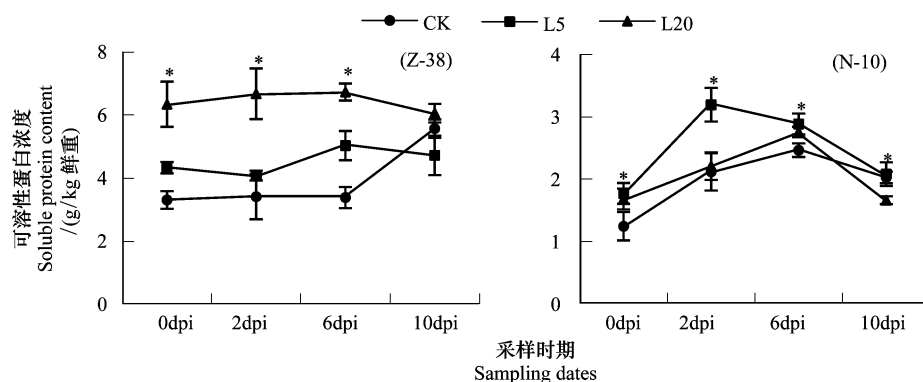


图2 连作土壤对棉花幼苗可溶性蛋白含量的影响

Fig.2 Effects of continuous cropping soils on the content of soluble protein in cotton seedlings

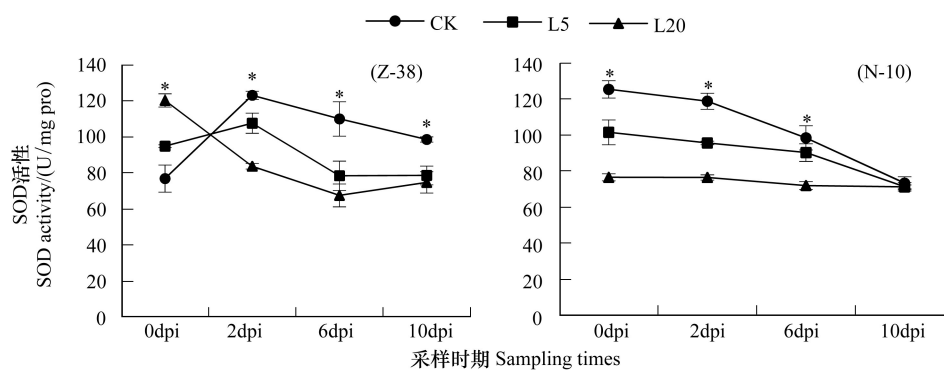
* 表示连作土壤处理间与对照之间差异显著 ($P < 0.05$)

图3 连作土壤对棉花幼苗SOD活性的影响

Fig.3 Effects of continuous cropping soils on the activities of SOD in cotton seedlings

各不同土壤处理间没有显著差异,而种植在 L15 土壤处理中棉 38 的 SOD 活性显著高于 L5 和对照土壤处理。

不同连作土壤对两种棉花体内 CAT 活性的影响与 SOD 活性一致。从病菌接种第 0d 到第 2d, 中棉 38 的 CAT 活性随土壤连作年限延长而显著升高, 但南农 10 号的 CAT 活性则随土壤连作年限延长而显著降低 (图 4)。病菌接种后第 6d 到第 10d, 南农 10 号 CAT 活性依然随土壤连作年限的延长而降低, 而中棉 38 的 CAT 活性呈现出随土壤连作年限的延长而降低的趋势。

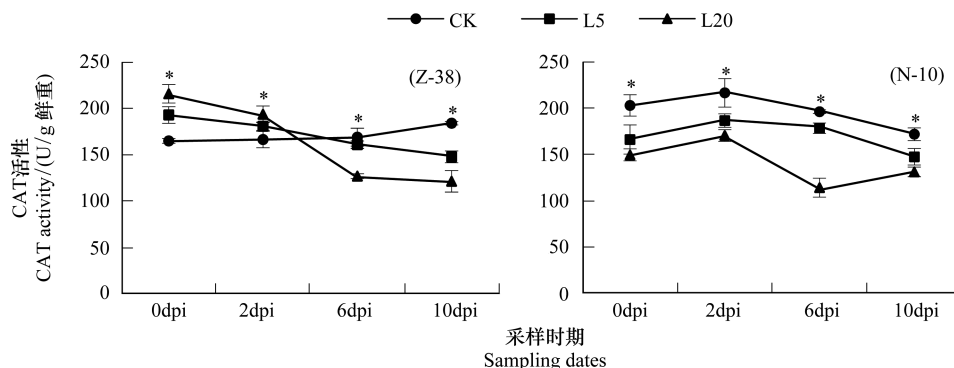


图4 连作对棉花幼苗CAT活性的影响

Fig.4 Effects of continuous cropping soils on the activities of CAT in cotton seedlings

与非连作土壤相比, 接菌前后, 连作土壤对中棉 38 体内 POD 活性没有显著影响, 但明显增加了南农 10

号的 POD 活性(图 5),其中在第 0d、2d 和 10d 有显著差异。

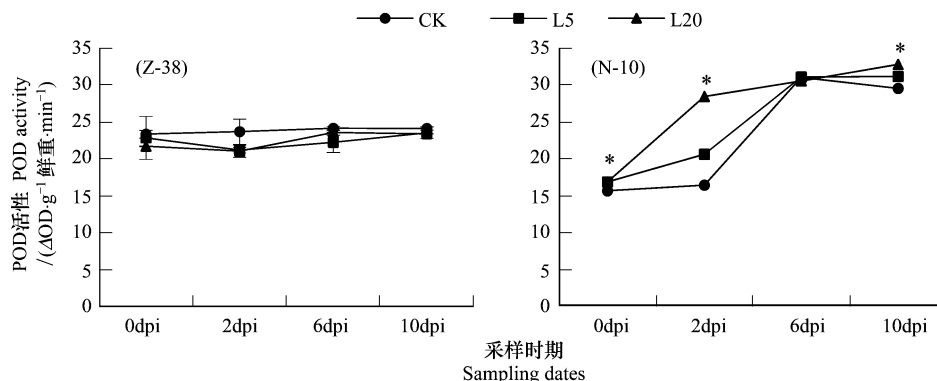


图 5 连作对棉花幼苗 POD 活性的影响

Fig.5 Effects of continuous cropping soils on the activities of POD in cotton seedlings

2.4 连作土壤对棉花 MDA 含量的影响

由图 6 可知,接菌前(第 0d),种植在连作土壤中的棉花体内 MDA 含量较高,并随连作年限延长呈增加趋势,说明连作土壤已经引起了棉花膜质过氧化反应。接菌后第 2d 到第 10d,棉花体内 MDA 的含量升高,并随连作年限增加而增加;与对照和连作 5 年土壤处理相比,长期连作土壤(L15)显著增加了棉花体内的 MDA 含量(图 6)。

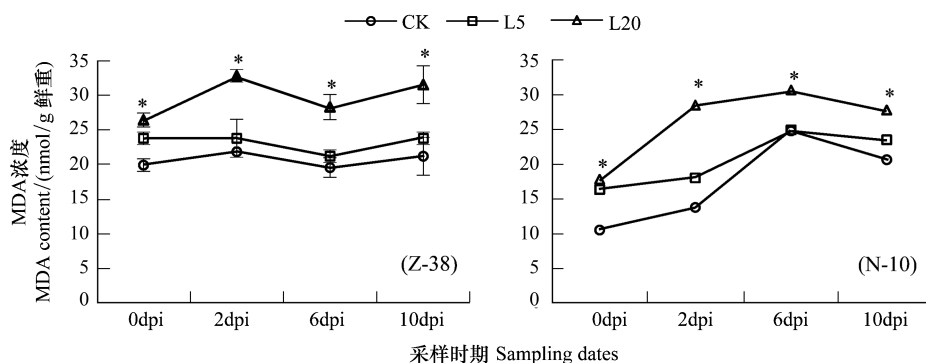


图 6 连作对棉花幼苗 MDA 含量的影响

Fig.6 Effects of continuous cropping soils on the content of MDA in cotton seedlings

3 讨论

已有许多研究表明,连作抑制棉花(*Gossypium hirsutum* L.)^[19]、花生(*Arachis hypogaea* L.)^[20]生长。郭红伟等对辣椒(*Capsicum annuum* L.)的研究结果表明,连作土壤导致辣椒植株株高、茎粗和地上部鲜重下降^[21];王芳等发现连作茄子(*Solanum melongena* L.)幼苗株高、叶面积、主根长和总根长明显低于正茬^[22]。也有研究表明,连作土壤灭菌后,苹果幼苗的株高、鲜重和干重分别比不灭菌连作土的高 83%、86%和 91%^[23]。本实验结果表明,连作土壤中两种棉花的主根长显著减小、地上鲜重和株高显著降低,根系鲜重也有不同程度降低。试验期间棉花幼苗植株虽未出现明显的发病症状,但连作土壤处理的棉花地下根系已出现发黑的现象,一级侧根数目和根系鲜重明显下降;而对照土壤接种棉花枯萎病菌后没有类似现象出现。说明连作土壤首先对根部造成损害,影响了棉花生理生化代谢功能和正常生长,进而影响棉花的抗病能力。另外,棉花枯萎病菌是由棉花根部伤口侵入或根梢直接侵入,并由导管向上蔓延,引起整株棉花发病,因此连作土壤造成棉花根部的损伤可能引起棉花枯萎病发病率上升。

蛋白质是植物体生命过程中重要的结构物质和功能物质,其含量直接反映酶的含量,同时具有渗透调节的功能,影响植物的生理功能^[24]。本研究结果表明,接菌前(第 0d),连作土壤中棉花体内的可溶性蛋白含量上升,说明连作后棉花能够通过主动积累可溶性蛋白来降低细胞液的渗透势,以防止细胞损伤。接菌后第 2d 到第 10d,中棉 38 的可溶性蛋白含量随连作年限增加而升高。虽然连作土壤引起南农 10 号可溶性蛋白含量升高,但连作 15 年土壤中的棉花可溶性蛋白含量显著低于连作 5 年土壤处理。这种差异可能与不同棉花品种的抗病性有关:抗病品种中棉 38 种植在连作 15 年土壤中仍具有渗透调节能力,能够积累蛋白调节渗透势;而相比之下,耐病品种南农 10 号的调节能力则降低或失去,使细胞合成可溶性蛋白的能力降低。说明连作土壤严重影响了棉花体内的蛋白质代谢,长期连作(L15)条件下,病原菌的胁迫破坏了南农 10 号体内蛋白质的正常代谢功能,进而降低了棉花的抗病能力。

在植物正常生长情况下,通常在细胞中产生活性氧(ROS),植物在长期进化过程中形成了多种防御策略(如抗氧化酶系统和非酶类抗氧化物)来抵御活性氧造成的损伤,以保持生理平衡状态^[25]。但当植物遭受逆境胁迫时,使得活性氧积累过多,致使植物组织受到伤害,活性氧为信号分子还诱导植物抵御外界环境胁迫。抗氧化酶可以清除活性氧,有利于提高植物耐受能力和减轻对生物、非生物胁迫的影响^[26]。如,SOD 作为清除活性氧的第一道防线,能将有毒的 $O_2 \cdot$ 转化为更稳定的 H_2O_2 ^[27], H_2O_2 又被 CAT 和 POD 分解^[25]。有研究表明,植株受到胁迫后,抗氧化酶活性相对降低^[28-29]。本研究结果表明,接菌前(第 0d),抗病品种中棉 38 体内的 SOD 和 CAT 活性随着土壤连作年限的延长逐渐升高,说明了连作土壤诱导棉花抗性反应,通过增强体内 SOD 和 CAT 活性,清除有毒物质,减轻对细胞的损害。但耐病品种南农 10 号体内中的 SOD 和 CAT 活性则随着连作年限的延长逐渐降低,POD 活性却则随连作年限的延长逐渐升高,说明连作土壤抑制了南农 10 号的 SOD 和 CAT 的活性,却诱导 POD 活性升高,这与金明红等^[30]研究结果一致。

作物遭受病菌侵染后,感病品种体内的 SOD 活性水平显著低于抗病品种^[31-32],即使是同种植物,感病时期的 SOD 活性比抗病时期的活性低^[33]。向妙莲^[34]等研究了接种白叶枯病菌对不同抗性水稻的抗氧化酶的影响,结果表明抗病品种的 SOD 和 CAT 活性高于感病品种。接菌后第 2d 到第 10d,病原菌侵染引起了两种棉花的 SOD 和 CAT 活性随连作年限延长而降低,说明连作后棉花的抗病性降低。然而,接菌后耐病品种南农 10 号 POD 活性则随连作年限延长而升高,而抗病品种中棉 38 的 POD 活性各处理间无显著变化,这可能与两棉花品种对病原菌抗性差异有一定关系。病原菌接种后造成了种植在连作土壤中的耐病品种南农 10 号 CAT 活性显著低于非连作土壤处理,引起其体内 H_2O_2 水平上升,导致过氧化物积累,进而可能诱导了体内 POD 酶活升高;而抗病品种中棉 38 体内相对较高的 CAT 活性能分解 H_2O_2 ,可能没有诱导 POD 活性升高。研究表明,连作土壤显著降低了棉花应对病原菌侵染引起的过氧化反应的能力,说明连作下棉花体内消除 ROS 的效率显著降低,进而降低了棉花的抗病性。但是连作条件下不同棉花品种对枯萎病菌抗氧化反应存在差异,也为棉花引种和棉花轮作倒茬提供理论依据。

丙二醛作为膜脂过氧化作用的最终产物,其含量是膜脂过氧化程度的一个重要标志^[35]。很多研究表明,植物受到病菌侵染后感病品种体内的 MDA 含量明显高于抗病品种^[31]。本研究结果发现种植在长期连作土壤中两种棉花的 MDA 含量均显著高于种植在短期连作和非连作对照土壤,说明连作引起细胞的膜质过氧化损伤。中棉 38 体内 MDA 含量在接菌后呈现波动性增长,而南农 10 号的 MDA 含量一直增加,且升高幅度大于中棉 38,也说明了抗病品种中棉 38 通过体内的调节机制减轻过氧化损伤的能力更强。连作条件下,棉花枯萎病菌的胁迫造成棉花幼苗叶片的 SOD、CAT 活性降低,体内抗氧化酶代谢失衡,活性氧增多,致使膜脂发生过氧化过程加重,丙二醛含量升高。南农 10 号 POD 活性虽升高,但由于 POD 具有 IAA 氧化酶的性质^[36],在逆境胁迫下 CAT 活性的降低和 POD 活性的增加都不利于对活性氧的清除,造成机体内活性氧增加,加速了 $O_2 \cdot$ 、 H_2O_2 向毒性更强的 $\cdot OH$ 转化,从而也会加速膜脂过氧化过程^[35],降低棉花幼苗的抗病性。

4 结论

综上所述,长期连作土壤显著影响了棉花正常生长,改变了棉花抗枯萎病菌生理生化响应,其中可溶性蛋

白和 MDA 含量显著升高, SOD 和 CAT 活性显著降低, 两种棉花的 POD 活性对枯萎病菌响应的差异, 也反映了不同品种之间的抗病性能的差异。研究结果表明, 长期连作对棉花的生长和生理生化代谢造成影响, 进而降低了棉花的抗枯萎病性, 这可能是连作条件下棉花发病上升的重要原因之一。但连作条件下不同棉花品种对枯萎病的生理生化响应存在差异, 因此在棉花引种时重视抗虫性的同时也应重视棉花的抗病性能, 种植过程中应尽量避免非抗病品种连作。

参考文献 (References):

- [1] 刘军, 唐志敏, 刘建国, 张东升, 刘萍, 蒋桂英. 长期连作及秸秆还田对棉田土壤微生物量及种群结构的影响. 生态环境学报, 2012, 21(8): 1418-1422.
- [2] Dowd C, Wilson L W, Mcfadden H. Gene expression profile changes in cotton root and hypocotyl tissues in response to infection with *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfectum*. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2004, 17(6): 654-667.
- [3] 刘瑜, 梁永超, 褚贵新, 冶军, 刘涛, 郑旭荣. 长期棉花连作对北疆棉区土壤生物活性与酶学性状的影响. 生态环境学报, 2010, 19(7): 1586-1592.
- [4] 陈绪兰, 姚春红. 棉花连作对土壤主要理化性状的影响. 中国棉花, 2014, 41(6): 23-24, 27-27.
- [5] 张伟, 陈一峰. 棉花长期连作对新疆土壤细菌群落结构的影响. 生态学报, 2014, 34(16): 4682-4689.
- [6] Clive J. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2013. Ithaca, N Y, USA: International service for the acquisition of agri-biotech applications (ISAAA), 2013.
- [7] 徐文华, 王瑞明, 卞同洋, 刘标, 郑央萍. 棉花枯萎病在盐城农区的发生演变与原因分析. 江西农业学报, 2007, 19(10): 56-59.
- [8] 房慧勇, 张桂寅, 马峙英. 转基因抗虫棉抗黄萎病鉴定及黄萎病发生规律. 棉花学报, 2003, 15(4): 210-214.
- [9] 朱荷琴, 冯自力. 中国抗虫棉品种(系)的抗病性评述. 中国棉花, 2005, 32(4): 23-23.
- [10] 李孝刚, 刘标, 刘莞莞, 韩正敏, 周可新, 郑央萍. 转基因抗虫棉根系分泌物对棉花黄萎病菌生长的影响. 应用生态学报, 2009, 20(1): 157-162.
- [11] 王翌, 刘连涛, 孙红春, 张永江, 李存东. 连作对棉株干物质积累、分配及功能叶片生理特征的影响. 河北农业大学学报, 2013, 36(5): 6-11.
- [12] Hao Z N, Wang L P, He Y P, Liang J G, Tao R X. Expression of defense genes and activities of antioxidant enzymes in rice resistance to rice stripe virus and small brown planthopper. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49(7): 744-751.
- [13] 黄玉茜, 韩晓日, 杨劲峰, 刘小虎, 白洪志. 连作胁迫对花生叶片防御酶活性及丙二醛含量的影响. 吉林农业大学学报, 2013, 35(6): 638-645.
- [14] 冯汉青, 吴强, 李红玉, 万东石, 贾秋珍, 李敏权, 梁厚果. 干旱与条锈病复合胁迫对小麦的生理影响. 生态学报, 2006, 26(6): 1963-1974.
- [15] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-165, 184-185.
- [16] 徐东, 赵建, 黄汉昌, 文镜. 改良的黄嘌呤氧化酶法测定动植物组织中 SOD 比活力. 食品科学, 2011, 32(6): 237-241.
- [17] Guo C J, Wei J Y, Yang J J, Xu J, Pang W, Jiang Y G. Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. Nutrition Research, 2008, 28(2): 72-77.
- [18] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海植物生理学会. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999: 305-306.
- [19] 陶磊, 褚贵新, 刘涛, 唐诚, 李俊华, 梁永超. 有机肥替代部分化肥对长期连作棉田产量、土壤微生物数量及酶活性的影响. 生态学报, 2014, 34(21): 6137-6146.
- [20] 李培栋, 王兴祥, 李奕林, 王宏伟, 梁飞燕, 戴传超. 连作花生土壤中酚酸类物质的检测及其对花生的化感作用. 生态学报, 2010, 30(8): 2128-2134.
- [21] 郭红伟, 郭世荣, 刘来, 孙锦, 黄保健. 辣椒连作对土壤理化性状、植株生理抗性及其离子吸收的影响. 土壤, 2012, 44(6): 1041-1047.
- [22] 王芳, 王敬国. 连作对茄子苗期生长的影响研究. 中国生态农业学报, 2005, 13(1): 79-81.
- [23] Wang Y F, Pan F B, Wang G S, Zhang, G D, Wang, Y L, Chen, X S, Mao, Z Q. Effects of biochar on photosynthesis and antioxidative system of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings under replant conditions. Scientia Horticulturae, 2014, 175: 9-15.
- [24] 李锐, 李生泉, 范月仙. 不同抗冷级别的棉苗低温诱导蛋白比较. 棉花学报, 2010, 22(3): 254-259.
- [25] Li H W, Wang G, Liu S D, An Q, Zheng Q, Li B, Li Z S. Comparative changes in the antioxidant system in the flag leaf of early and normally senescing near-isogenic lines of wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Cell Reports, 2014, 33(7): 1109-1120.
- [26] Singh B K, Sharma S R, Singh B. Antioxidant enzymes in cabbage: Variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase.

- Scientia Horticulturae, 2010, 124(1): 9-13.
- [27] Sekmen A H, Ozgur R, Uzilday B, Turkan I. Reactive oxygen species scavenging capacities of cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars under combined drought and heat induced oxidative stress. Environmental and Experimental Botany, 2014, 99: 141-149.
- [28] 彭月丽, 王秀峰, 李飘飘, 韩宇睿, 杨凤娟. 营养液 NO_3^- 浓度对草莓幼苗生长和抗氧化酶系统的影响. 应用生态学报, 2014, 25(4): 1051-1056.
- [29] 任佰朝, 张吉旺, 李霞, 范霞, 董树亭, 赵斌, 刘鹏. 大田淹水对夏玉米叶片衰老特性的影响. 应用生态学报, 2014, 25(4): 1022-1028.
- [30] 金明红, 冯宗炜. 臭氧对冬小麦叶片膜保护系统的影响. 生态学报, 2000, 20(5): 444-447.
- [31] Huang W, Jia Z K, Han Q F. Effects of herbivore stress by *Aphis medicaginis* Koch on the Malondialdehyde contents and the activities of protective enzymes in different alfalfa varieties. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(6): 2177-2183.
- [32] Hao Z N, Wang L P, Huang F D, Tao R X. Expression of defense genes and antioxidant defense responses in rice resistance to neck blast at the preliminary heading stage and full heading stage. Plant Physiology and Biochemistry, 2012, 57: 222-230.
- [33] Hao Z N, Wang L P, Tao X R. Expression patterns of defence genes and antioxidant defence responses in a rice variety that is resistant to leaf blast but susceptible to neck blast. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2009, 74(2): 167-174.
- [34] 向妙莲, 付永琦, 何永明, 黄友明, 曾晓春. 茉莉酸甲酯浸种对水稻幼苗白叶枯病抗性及其抗氧化酶活性的影响. 中国水稻科学, 2014, 28(4): 419-426.
- [35] 鲁艳, 雷加强, 曾凡江, 徐立帅, 刘国军, 彭守兰, 黄彩变. NaCl 胁迫对大果白刺幼苗生长和抗逆生理特性的影响. 应用生态学报, 2014, 25(3): 711-717.
- [36] Bandurski R S, Nonhebel H M. Auxins // Wilkins M B, ed. Advanced Plant Physiology. London: Pitman Press, 1984: 1-20.