

# 微量元素对大豆根腐病主要病原菌生长及其产毒作用的研究

马立功<sup>1</sup>, 张匀华<sup>1</sup>, 季宏平<sup>1</sup>, 孟庆林<sup>1</sup>, 石凤梅<sup>1</sup>, 张 威<sup>2</sup>, 纪武鹏<sup>3</sup>, 王 军<sup>1</sup>, 刘 佳<sup>1</sup>, 李易初<sup>1</sup>  
(1. 黑龙江省农业科学院 植物保护研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 黑龙江省农垦科学院 作物研究所, 黑龙江 佳木斯 154007)

**摘要:**研究了不同微量元素(B、Mn、Mo、Cu、Zn)对大豆根腐病主要致病菌茄镰孢菌和立枯丝核菌产孢、菌丝生长、产毒的作用。结果表明:微量元素 Mn 为  $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Zn 为  $1.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、B 为  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时对茄镰孢菌产孢有显著的抑制作用。Mn、Mo、B 在供试的 3 个浓度下对茄镰孢菌和立枯丝核菌菌丝生长、产毒量均有一定的抑制作用,并随浓度增加抑制作用增强。在供试最低浓度时,Cu 为  $1.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Zn 为  $1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  对病原菌丝生长和产毒有促进作用。

**关键词:**微量元素;大豆根腐病原菌;产孢;菌丝生长;产毒

**中图分类号:**S435.651

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2010)05-0059-03

大豆根腐病是由多种病原菌混合侵染的一种土传病害,由于其分布广,危害重,防治困难,已成为制约大豆生产的主要病害<sup>[1]</sup>。目前,在生产上一般用种衣剂拌种来防治该病,但防治效果不理想。该试验通过研究不同微量元素对大豆根腐病病原菌(茄镰孢菌,立枯丝核菌)的产孢、菌丝生长以及产毒的作用,筛选出有效的土壤调控因子,为大豆根腐病的生态学调控提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试菌株 茄镰孢菌(*Fusarium solani*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*),由黑龙江省农业科学院植保所实验室提供。

1.1.2 供试培养基 PDA:马铃薯 200.00 g,葡萄糖 20.00 g,琼脂 18.00 g,蒸馏水 1 000 mL;PSC:蔗糖 30.00 g,蛋白胨 10.00 g,硝酸钠 3.00 g,磷酸二氢钾 1.00 g,氯化钾 0.50 g,硫酸镁 0.50 g,硫酸亚铁 0.01 g,水 1 000 mL;Richard 培养液:硝酸钾 10.00 g,氧化铁 0.01 g,磷酸二氢钾 5.00 g,蔗糖 5.00 g,硫酸镁 0.50 g,蒸馏水 1 000 mL。

1.1.3 微量元素 锌为  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,含锌量

为 21.3%,锰为  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,含锰量 32.2%,硼为  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ,含硼量 11%,铜为  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,含铜量为 23.6%,钼为  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,含钼量为 53.8%,Mn、Cu、Zn、Mo、B5 种微量元素均为分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 病原菌扩繁 供试病原菌在 PDA 培养基上扩繁,7 d 后备用。

1.2.2 含不同微量元素培养基的制作 根据大豆正常生长对微量元素的需求量,在 Richard 和 PSC 培养液中分别加入 Mn、Cu、Zn、Mo、B5 种微量元素,每种微量元素分别设 3 个浓度,Mn: 30.0、45.0、60.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;Cu: 1.8、2.7、3.6  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;Zn: 1.2、1.8、2.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;Mo: 0.4、0.6、0.8  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;B: 1.0、1.5、2.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2.3 病原菌毒素滤液的制备 茄镰孢菌和立枯丝核菌分别移接在 PDA 平板上,于 25℃ 下培养 7 d。将菌落打成直径为 5 mm 菌片,分别接入装有 80 mL PSC 和 Richard 培养液的 100 mL 三角瓶内,每瓶 6 片,置 25℃ 下振荡培养( $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ )15 d。培养液经过滤,离心 15 min( $8\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ),弃去沉淀,取上清液于 121℃ 高压蒸汽灭菌 15 min,即得毒素滤液<sup>[2-3]</sup>。

1.2.4 病原菌产孢量及菌丝生长的测定 用血球板计数法测定病原菌在培养液中产生的孢子数;将培养液过滤所得的菌丝放入 60℃ 的烘干箱干燥 48 h,称量菌丝干重<sup>[4]</sup>。

1.2.5 病原菌产毒量的测定 茄镰孢菌和立枯

收稿日期:2010-02-03

基金项目:黑龙江省“十五”科技攻关重点资助项目(GB04B201)

第一作者简介:马立功(1983-),男,青海省乐都县人,硕士,研究实习员,主要从事土传病害研究。E-mail: maligong0@163.com。

丝核菌产生的毒素经紫外吸收光谱测定在 200~300 nm 分别有 5 个较大吸收峰,分别代表其分泌毒素的主要成分。其紫外吸光值的大小表示该物质的含量,将这 5 种物质的吸光值(OD)总和与毒素浓度进行分析,建立线性回归方程,计算不同条件下病原菌分泌毒素的相对浓度。

## 2 结果与分析

### 2.1 微量元素对病原菌产孢量的影响

从表 1 可知,Zn、B 供试的 3 个不同浓度对茄镰孢菌的产孢均有抑制作用,并随浓度增加抑制作用增强,当 Zn 为  $2.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、B 为  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

浓度时对产孢的抑制率分别为 55.0%、56.5%。Mn 为  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时促进产孢,当 Mn 为 45.0 和  $60.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时对产孢有抑制作用,抑制率分别为 19.7% 和 45.5%。Cu、Mo 供试的 3 个浓度对病原菌产孢均有促进作用,其中 Mo 随浓度增加促进作用增强,Cu 在低浓度时病原菌产孢最好。

### 2.2 微量元素对病原菌菌丝生长的影响

从表 2 可知,Mn、Mo、B 供试的 3 个浓度对茄镰孢菌菌丝生长均有显著的抑制作用,并随着浓度增加对病原菌菌丝生长抑制作用增强。当 Mn 的浓度从  $30.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $60.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时菌丝干重减少 54.7%;B 的浓度从

表 1 不同微量元素条件下茄镰孢菌的产孢量比较

处理	浓度 1 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	孢子数 / $\times 10^6 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$	浓度 2 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	孢子数 / $\times 10^6 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$	浓度 3 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	孢子数 / $\times 10^6 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$	平均 / $\times 10^6 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$
Cu	1.8	2.32 a	2.7	2.29 a	3.6	2.12 ab	2.24
Mo	0.4	2.08 a	0.6	2.38 a	0.8	2.52 a	2.33
Mn	30.0	2.11 ab	45.0	1.59 b	60.0	1.08 b	1.59
Zn	1.2	1.82 b	1.8	0.96 c	2.4	0.89 c	1.44
B	1.0	1.89 b	1.5	1.84 b	2.0	0.86 c	1.53
CK		1.98 b		1.98 ab		1.98 ab	1.98

$1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时菌丝干重减少 20.9%。Mo 元素随着浓度增加,对病原菌菌丝生长抑制作用增强,当 Mo 为 0.6 和  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时对菌丝生长抑制率比  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时平均增加

8.5%左右。Cu、Zn 在低浓度时促进菌丝生长,高浓度时对病原菌菌丝生长有一定的抑制作用。当 Cu、Zn 浓度为  $1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时病原菌菌丝干重比对照分别增加 12.5%、16.1%。

表 2 不同微量元素对病原菌菌丝生长的影响

处理	浓度 1 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	菌丝干重/g		浓度 2 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	菌丝干重/g		浓度 3 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	菌丝干重/g		平均菌丝干重/g	
		茄镰孢菌	立枯丝核菌		茄镰孢菌	立枯丝核菌		茄镰孢菌	立枯丝核菌	茄镰孢菌	立枯丝核菌
Cu	1.8	0.3770 ab	0.2902 b	2.7	0.3480 b	0.2696 b	3.6	0.3060 ab	0.2732 a	0.3437	0.2777
Mo	0.4	0.2612 cd	0.1198 e	0.6	0.2405 c	0.1283 d	0.8	0.2412 c	0.1302 c	0.2476	0.1261
Mn	30.0	0.2894 c	0.1842 d	45.0	0.2079 d	0.1066 d	60.0	0.1312 d	0.0210 e	0.2095	0.1039
Zn	1.2	0.3930 a	0.3642 a	1.8	0.3700 a	0.2927 a	2.4	0.3211 a	0.2138 b	0.3614	0.2902
B	1.0	0.2743 c	0.1769 d	1.5	0.2483 c	0.1268 d	2.0	0.2171 c	0.0843 d	0.2466	0.1293
CK		0.3297 b	0.2386 c		0.3297 b	0.2386 c		0.3297 a	0.2386 b	0.3297	0.2386

Mn、Mo、B 供试的 3 个浓度对立枯丝核菌菌丝生长均有显著的抑制作用,其中 Mn、B 随着浓度增加对病原菌菌丝生长抑制作用增强,当 Mn 的浓度从  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加  $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时菌丝干重减少 88.6%;B 的浓度从  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时菌丝干重减少 52.3%。Mo 虽然供试的 3 个浓度对病原菌菌丝生长均有抑制作用,但浓度处理间差异不显著。Cu、Zn 在低浓度时促进菌丝生长,在供试最高浓度时对菌丝生长有一定的抑制作用。

### 2.3 微量元素对病原菌产毒的影响

从表 3 可知,Mo、Mn、B 供试的各浓度对茄镰孢菌产毒均有抑制作用,并随浓度增加抑制作用增强。当 Mo 的浓度从  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时病原菌产毒量减少 3.6%;当 Mn 的浓度从  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时病原菌产毒量减少 8.8%;当 B 的浓度从  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时病原菌产毒量减少 12.9%;Zn 为 1.2 和  $1.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时促进病原菌产毒,浓度为  $2.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时抑制产毒。Cu 随浓度增加促进病原菌产毒。

表 3 不同微量元素对病原菌产毒量的影响

处理	浓度 1 /mg · L <sup>-1</sup>	产毒量/μg · mL <sup>-1</sup>		浓度 2 /mg · L <sup>-1</sup>	产毒量/μg · mL <sup>-1</sup>		浓度 3 /mg · L <sup>-1</sup>	产毒量/μg · mL <sup>-1</sup>		平均产毒量/μg · mL <sup>-1</sup>	
		茄镰孢菌	立枯丝核菌		茄镰孢菌	立枯丝核菌		茄镰孢菌	立枯丝核菌	茄镰孢菌	立枯丝核菌
Cu	1.8	15.26 b	14.29 b	2.7	15.54 a	13.15 c	3.6	15.69 a	12.8 b	15.50	13.41
Mo	0.4	12.95 e	13.03 e	0.6	12.85 e	12.43 e	0.8	12.48 e	11.79 d	12.76	12.42
Mn	30.0	14.27 c	13.51 d	45.0	13.66 c	12.89 d	60.0	13.02 d	10.20 e	13.65	12.20
Zn	1.2	15.71 a	14.97 a	1.8	15.53 a	14.32 a	2.4	14.94 c	12.83 b	15.39	14.04
B	1.0	14.10 d	12.93 f	1.5	13.31 d	12.78 de	2.0	12.27 f	12.46 c	13.23	12.72
CK		15.16 bc	13.94 c		15.16 b	13.94 b		15.16 b	13.94 a	15.16	13.94

立枯丝核菌在 Mo、Mn、B 供试的各浓度下毒素产毒量均显著低于空白对照,并随着浓度的增加对病原菌的产毒抑制作用增强,当 Mo 的浓度从 0.4 mg · L<sup>-1</sup> 增加到 0.8 mg · L<sup>-1</sup> 时产毒量减少 9.5%;当 Mn 的浓度从 30 mg · L<sup>-1</sup> 增加到 60 mg · L<sup>-1</sup> 时产毒量减少 24.5%;当 B 的浓度从 1 mg · L<sup>-1</sup> 增加到 2 mg · L<sup>-1</sup> 时产毒量减少 3.6%;Cu、Zn 在低浓度时促进病原菌产毒,随浓度增加对病原菌产毒有一定抑制作用。当 Mo 为 0.8 mg · L<sup>-1</sup>、Mn 为 60 mg · L<sup>-1</sup>、B 为 2 mg · L<sup>-1</sup> 即供试最高浓度时对病原菌产毒抑制率分别达 15.4%、26.8% 和 10.6%。

3 结论与讨论

微量元素对病原菌产孢、菌丝生长、产毒都有一定的影响。B 为 2 mg · L<sup>-1</sup>、Zn 为 1.8 mg · L<sup>-1</sup> Mn 为 60 mg · L<sup>-1</sup> 时对茄镰孢菌产孢有显著的抑制作用,Cu、Mo 促进产孢。Mn、Mo、B 在供试的 3 个浓度下对茄镰孢菌和立枯丝核菌菌丝生长、产毒量均有抑制作用,其中 Mn、B 随浓度增高抑

制作用增强。Cu、Zn 在低浓度时促进茄镰孢菌菌丝生长,当 Cu 为 3.6 mg · L<sup>-1</sup>,Zn 为 2.4 mg · L<sup>-1</sup> 供试最高浓度时对病原菌菌丝生长有一定的抑制作用。Cu 在供试各浓度对立枯丝核菌菌丝生长均有促进作用,Zn 随浓度增加对病原菌菌丝生长抑制作用增强。当 Cu 为 3.6 mg · L<sup>-1</sup>,Zn 为 2.4 mg · L<sup>-1</sup> 即试验供试最高浓度时对茄镰孢菌和立枯丝核菌产毒有一定抑制作用。因此,根据试验结果,在大豆生产实践中,可通过对 Mn、B、Mo 微量元素的调控来减轻大豆根腐病的危害。

参考文献:

[1] 韩庆新,辛惠普.大豆根腐病主要病原菌对大豆幼苗致病性的初步研究[J].大豆科学,1990,9(2):157-161.  
[2] 台莲梅,许艳丽.大豆根腐病菌生长及产生毒素的条件筛选[J].中国油料作物学报,2004,26(4):71-73.  
[3] 台莲梅,许艳丽,闫风云.尖镰孢菌毒素对大豆幼根生理生化影响[J].中国农学通报,2005,21(11):193-196.  
[4] 许光辉,郑洪元.土壤微生物分析方法手册[M].北京:农业出版社,1986.

Effect of Microelements on the Growing and Toxin Production of Pathogens of Soybean Root Rot

MA Li-Gong<sup>1</sup>, ZHANG Yun-hua<sup>1</sup>, JI Hong-ping<sup>1</sup>, MENG Qing-lin<sup>1</sup>, SHI Feng-mei<sup>1</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, JI Wu-Peng<sup>3</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>, LIU Jia<sup>1</sup>, LI Yi-chu<sup>1</sup>

(1. Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Plant Virus-free Seedlings Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 3. Crops Institute of Heilongjiang Land Reclamation Academy of Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

**Abstract:** The effect of microelements (B, Mn, Mo, Cu, Zn) on the pathogens of Soybean Root Rot of *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani*'s sporulation, mycelial growth and toxin production was studied. The results showed that *Fusarium*'s sporulation was inhibited when Mn was 60 mg · L<sup>-1</sup>, Zn was 1.8 mg · L<sup>-1</sup> and B was 2 mg · L<sup>-1</sup> used in the medium. Mn, Mo, B could inhibit mycelial growth, toxin production of *Fusarium* and *Rhizoctonia solani* in all three of the concentration of trials, and increase the inhibitory action enhancement along with the density. The mycelial growth and toxin production of pathogens had a promoter action when Cu was 1.8 mg · L<sup>-1</sup>, Zn was 1.2 mg · L<sup>-1</sup> which was the lowest density in the experiment.

**Key words:** microelements; pathogens of Soybean Root Rot; sporulation; mycelial growth; toxin production