

文章编号: 1001-411X (2002) 01-0038-03

金属离子对水稻纹枯病菌菌丝生长和菌核形成的影响

沈会芳, 周而勋, 戚佩坤

(华南农业大学资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要: 研究了 12 种金属离子对水稻纹枯病菌菌丝生长和菌核形成的影响, 按其対菌丝生长和菌核形成有抑制作用的浓度范围不同分为 3 类: (1) 对病菌有抑制作用的浓度最高, 在 2 500 $\mu\text{g/mL}$ 时, 仍有菌丝生长和菌核形成, 属于这一类的有 Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 4 种金属离子; 值得一提的是, Mg^{2+} 在 100~2 500 $\mu\text{g/mL}$ 范围内促进菌丝生长和增加菌核干质量. (2) 对病菌有抑制作用的浓度较高, 在 500 或 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 时可严重抑制菌丝生长和菌核形成, 属于这一类的有 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 5 种金属离子. (3) 在浓度为 10 或 50 $\mu\text{g/mL}$ 时严重抑制菌丝生长和菌核形成, 属于这一类的有 Ag^{+} 、 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 3 种金属离子.

关键词: 金属离子; 水稻纹枯病菌; 菌丝生长; 菌核形成

中图分类号: S435.111.4

文献标识码: A

随着工业不断发展, 一些金属离子尤其是重金属离子对土壤或水源的污染事件时有发生, 土壤或水中这些金属离子可与土传病原真菌或水中的真菌发生作用, 影响真菌生长、生殖和致病力等. 近年来, 国内外在这方面均有一些报道, 如 Englander 等^[1]报道了 Cu^{2+} 等 17 种金属离子对栗疫病菌的影响; 刘杏忠等^[2]报道了 Hg^{2+} 等 6 种重金属离子对水霉的毒性. 立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani* Kühn) 是极其重要的土传病原真菌, 寄主范围广泛, 为害严重. 近年来, 由立枯丝核菌 AG-1-IA 引起的水稻纹枯病给水稻生产造成了严重的经济损失. 土壤中的金属离子对立枯丝核菌的影响程度如何, 已引起了植物病理学工作者的关注, 并相继开展了有关的研究. 例如, Moromizato 等^[3]发现 Mg^{2+} 可增加立枯丝核菌 AG-1 菌核形成数量. 刘力等^[4]研究了 Cu 、 Fe 、 Zn 、 B 对立枯丝核菌不同融合群的敏感性. 但关于金属离子对水稻纹枯病菌影响的研究很少, 本试验就 12 种金属离子对水稻纹枯病菌的影响进行了研究.

1 材料与方法

1.1 材料

病原菌是水稻纹枯病菌菌株 (华南农业大学资源环境学院真菌研究室保存). 培养基有马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA), 干酪素葡萄糖琼脂 (CDA, 成分: 干酪素 15 g + 葡萄糖 20 g + 纯化琼脂 20 g + 去离子水 1 000 mL), 干酪素葡萄糖培养液 (CDL). 金属离子共有 12 种, 分别为 Mg^{2+} ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 广州达濠化工厂生产)、 Ba^{2+} ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 广东台山化工厂生产)、 Ca^{2+} ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 广州化学

试剂厂生产)、 Mn^{2+} ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 上海试剂三厂生产)、 Fe^{3+} ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 天津市化学试剂三厂生产)、 Fe^{2+} ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 广东台山化工厂生产)、 Cu^{2+} ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 国营上海试剂厂生产)、 Pb^{2+} ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, 分析纯, 广州新港化工厂生产)、 Zn^{2+} (ZnCl_2 , 化学纯, 湖南省株洲市化工原料厂生产)、 Ag^{+} (AgNO_3 , 化学纯, 中国上海试剂总厂生产)、 Hg^{2+} (HgCl_2 , 分析纯, 广州化学试剂厂生产) 和 Cd^{2+} ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 天津市化学试剂三厂生产).

1.2 方法

1.2.1 金属离子溶液的配制 在无菌条件下称出定量的药剂, 用少量灭菌去离子水溶解, 并定容制成一定浓度的母液, 4℃冰箱内保存备用, 试验时, 按所需浓度进行稀释. 供试金属离子的体积质量 ($\mu\text{g/mL}$) 如下: Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 均为 0、100、500、1 000、2 500、5 000; Fe^{3+} 为 0、5、10、50、100、500、1 000, Fe^{2+} 为 0、1、5、10、50、100、500、1 000, Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 均为 0、1、5、10、50、100、500, Pb^{2+} 为 0、5、10、50、100、500, Ag^{+} 为 0、0.1、0.5、1、5、10, Hg^{2+} 为 0、0.1、0.5、1、5、10、50、100, Cd^{2+} 为 0、0.01、0.1、0.5、1、5、10.

1.2.2 金属离子对菌丝干质量的影响 在装有 24 mL CDL 培养液的三角瓶中加入 1 mL 按所需浓度稀释的金属离子溶液, 摇匀, 对照加入 1 mL 灭菌去离子水, 用 $d=4\text{ mm}$ 打孔器在 PDA 上已培养 48 h 的水稻纹枯病菌菌落最外围切取菌丝块, 每个三角瓶中接入 1 块菌丝块, 每处理 3 次重复, 25℃黑暗条件下培养, 每隔 12 h 人工摇瓶 5 min, 7 d 后, 过滤取出菌丝, 烘干, 称质量.

收稿日期: 2001-04-13

作者简介: 沈会芳 (1973-), 女, 硕士, 研究实习员, 现在广东省农科院植保所工作.

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (950383)

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

1.2.3 金属离子对菌核形成的影响 将定容 14.4 mL 的 CDA 融化, 当温度降到 50 ℃左右, 加入 0.6 mL 按所需浓度稀释的金属离子溶液, 对照加入 0.6 mL 灭菌去离子水, 摇匀, 倒入 $d=9$ cm 培养皿中制成平板, 然后, 每平板中央接入一同 1.2.2 的菌丝块, 每处理 3 次重复, 25 ℃黑暗条件下培养 21 d 后, 挑出菌核, 记录菌核数量及大小, 将菌核烘干, 称质量。

2 结果与分析

2.1 金属离子对菌丝干质量的影响

金属离子对菌丝干质量的影响结果见图 1: Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 对菌丝生长有影响的浓度较高, 在 2 500 或 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 仍有一定菌丝生长。病

菌对 Mn^{2+} 的敏感性相对较高, 在 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 时, 菌丝生长完全被抑制。 Ba^{2+} 和 Ca^{2+} 在一定浓度对菌丝生长有轻微促进作用, 而 Mg^{2+} 在 100~2 500 $\mu\text{g/mL}$ 范围内对菌丝生长有明显的促进作用。 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 对菌丝生长有影响的浓度较上述 4 种金属离子稍低, 在 500 或 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 时已严重抑制菌丝生长, 它们对菌丝生长影响趋势基本一致, 从低浓度的不影响到高浓度的抑制菌丝生长, 且浓度越高, 抑制能力越强, 其中, Zn^{2+} 在 1~5 $\mu\text{g/mL}$ 范围内对菌丝生长有轻微促进作用。 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 对菌丝有抑制作用的浓度更低, 在 10 或 50 $\mu\text{g/mL}$ 时严重抑制菌丝生长, 它们对菌丝生长的影响趋势也是从低浓度的不影响到高浓度的抑制, 且

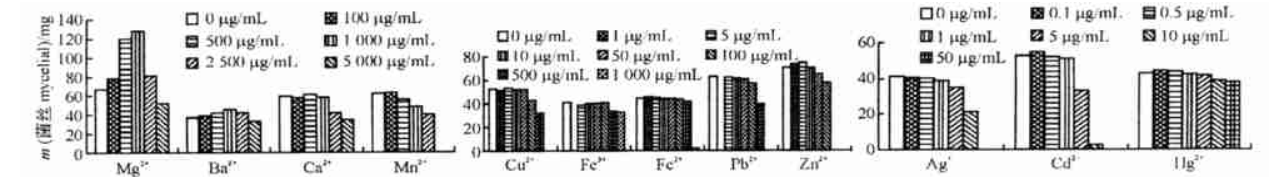


图 1 金属离子对水稻纹枯病菌菌丝干质量的影响

Fig. 1 Effects of metal ions on the dry mass of mycelia of *R. solani* AG-1-IA

表 1 金属离子对水稻纹枯病菌菌核形成的影响¹⁾

Tab. 1 Effects of metal ions on the sclerotial formation of *R. solani* AG-1-IA

ρ (离子 ions) / $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	数量	大小	m (干 dry) /mg	ρ (离子 ions) / $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	数量	大小	m (干 dry) /mg	ρ (离子 ions) / $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	数量	大小	m (干 dry) /mg			
Mg^{2+}	0	69a	+	77.1e	Cu^{2+}	0	72b	+	52.7c	Zn^{2+}	0	70a	+	55.0bc
	100	68a	++	131.0b		1	80a	+	63.9b		1	56b	+	63.5ab
	500	70a	++	137.3a		5	76ab	+	72.5a		5	54b	+	64.0ab
	1000	66a	++	123.2c		10	71b	+	60.5bc		10	56b	+	62.3abc
	2500	60b	++	113.0d		50	68b	+	52.5c		50	49c	+	56.6bc
	5000	22c	++	40.7f		100	64c	+	52.2c		100	53b	+	68.1a
					500	26d	+	35.5d		500	0d		0d	
Ba^{2+}	0	75a	+	73.4a	Fe^{3+}	0	92a	+	86.9b	Ag^{+}	0	71ab	+	46.8c
	100	74a	+	73.6a		5	81b	+	86.5b		0.1	70ab	+	88.7ab
	500	72a	+	62.8ab		10	78b	+	86.8b		0.5	76a	+	96.6a
	1000	65b	+	58.0bc		50	77b	+	87.4b		1.0	66b	+	76.1b
	2500	58c	+	49.0cd		100	81b	+	93.6a		5.0	36c	++	53.6c
	5000	57c	+	38.6d		500	51c	++	94.1a		10.0	39c	++	70.4b
				1000	17d	++	56.0c							
Ca^{2+}	0	33a	++	62.3c	Fe^{2+}	0	28a	++	65.7a	Cd^{2+}	0	61ab	+	52.7ab
	100	31a	++	62.0c		5	27a	++	66.0a		0.01	63ab	+	54.8ab
	500	30a	++	63.1c		10	29a	++	63.7a		0.10	66a	+	53.2ab
	1000	32a	+++	93.6b		50	28a	++	63.5a		0.50	53b	+	53.0ab
	2500	20b	+++	98.3a		100	24ab	++	63.4a		1.00	56b	+	56.8a
	5000	16c	+++	98.4a		500	19b	++	62.2a		5.00	49c	+	57.0a
					1000	3c	+++	43.7b		10.00	48c	+	41.7b	
Mn^{2+}	0	63a	+	80.4a	Pb^{2+}	0	78a	+	64.2b	Hg^{2+}	0	84bc	+	62.1cd
	100	55b	+	77.7a		5	71b	+	62.1b		0.1	87b	+	65.5c
	500	45c	+	70.7b		10	74ab	+	57.6b		0.5	88b	+	67.2bc
	1000	19d	+	35.7c		50	78a	+	56.4bc		1.0	93b	+	83.4a
	2500	4e	+	19.3d		100	76a	+	48.8c		5.0	102a	+	83.9a
	5000	0		0e		500	62c	++	124.9a		10.0	91b	+	71.1b
									50.0	70c	+	57.1d		

1) +、++、+++ 分别表示 80% 的菌核 $d<2.2\sim3>3$ mm; 表中数据为 3 次重复的平均值; 表中同列数据具有相同字母者表示差异不显著 (Duncan 法, $P>0.05$)

浓度越高,抑制能力越强.

2.2 金属离子对菌核形成的影响

金属离子对菌核形成的影响如表 1 所示:在所试浓度中, Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 对菌核数量影响趋势是由低浓度的不影响到高浓度的抑制,但 Mg^{2+} 在 100 ~ 2 500 $\mu\text{g/mL}$ 、 Ca^{2+} 在 1 000 ~ 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内增加菌核体积,使菌核干质量增加, Mn^{2+} 在 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 已完全抑制菌核形成. Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 在所试浓度中,低浓度不影响或轻微增加菌核数量,高浓度抑制菌核形成. Pb^{2+} 在 50 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 时,菌核体积稍变小,但数量不受抑制,浓度升到 500 $\mu\text{g/mL}$ 时,菌核体积变大,干质量随之增加. Zn^{2+} 在 1 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内均减少菌核形成数量,但菌核干质量反而增加,浓度增大到 500 $\mu\text{g/mL}$ 时,完全抑制菌核形成. 同样, Ag^{+} 和 Cd^{2+} 在所试浓度中,低浓度也不影响或轻微增加菌核数量,高浓度抑制菌核形成,但 Ag^{+} 在 5、10 $\mu\text{g/mL}$ 时增大菌核体积. Hg^{2+} 在 0.1 ~ 5 $\mu\text{g/mL}$ 范围内增加菌核数量,5 $\mu\text{g/mL}$ 时菌核数量最多,浓度增大到 50 $\mu\text{g/mL}$ 才表现出明显的抑制作用.

3 结论与讨论

本文研究了 12 种金属离子对水稻纹枯病菌菌丝生长和菌核形成的影响,按其对应纹枯病菌作用的浓度范围不同分为 3 类, Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 为第一类,它们影响病原菌的浓度较高,在 2 500 或 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 仍有一些菌丝生长和菌核形成;第二类为 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} ,这 5 种金属离子在 500 或 1000 $\mu\text{g/mL}$ 时可严重抑制菌丝生长和菌核形成;第三类是 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} ,它们在 10 或 50 $\mu\text{g/mL}$ 时严重抑制菌丝生长和菌核形成.

Moromizato 等^[3]报道: Mg^{2+} 在 100 ~ 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内促进菌核的形成,浓度越高,促进能力越强. 本研究结果表明: Mg^{2+} 在 100 ~ 2 500 $\mu\text{g/mL}$ 内促进菌核体积和干质量增加,而 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 则抑制菌核形成. 造成这种差异的原因可能与培养时间有关, Moromizato 培养 4 d 就统计结果,而本试验培养 21 d 后才统计结果. 本试验结果与刘力等^[4]报道的 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Zn^{2+} 对立枯丝核菌 AG-1 的抑制作用基本一致.

本研究发现,一些金属离子浓度较高时,抑制菌核数量,但增加菌核体积,使得菌核干质量下降很少甚至增加,因此,研究金属离子对水稻纹枯病菌菌丝生长和菌核形成的影响时,只考虑对菌核数量或菌核干质量的影响都不全面,应两者综合考虑才能全面反映对菌核形成的影响. 金属离子在高浓度增大菌核体积及干质量,即增加了菌核单粒质量,表明组成菌核的细胞增多,这可能是病原菌在不利条件下的一种自我保护反应,体积增大不利于有害物质渗入菌核内部,增加菌核存活力;同时,细胞增多,其萌发力也相应增加.

参考文献:

[1] ENGLANDER C M, CORDEN M E. Stimulation of mycelial growth of *Endothia parasitica* by heavy metals[J]. Appl Microbiol. 1971, 23: 1 012-1 016.
[2] 刘杏忠, 沈崇尧, 裴维蕃. 重金属离子对一些水霉的毒性[J]. 植物病理学报, 1989, 19(3): 173-177.
[3] MOROMIZATO Z, ISHIZAKI F, TADARA K, et al. The effects of phosphorus and magnesium on sclerotium formation in *Rhizoctonia solani* Kühn [J]. Annu Phytopathol Soc Japan, 1991, 57: 649-656.
[4] 刘力, 葛起新. 立枯丝核菌融合群对四种微量元素敏感性的研究[J]. 植物病理学报, 1988, 18(3): 175-178.

The Effects of Metal Ions on Mycelial Growth and Sclerotial Formation of *Rhizoctonia solani* AG-1-IA

SHEN Hui-fang, ZHOU Er-xun, QI Pei-kun

(College of Resources and Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The effects of twelve metal ions on mycelial growth and sclerotial formation of *Rhizoctonia solani* AG-1-IA were studied. According to the concentration affecting mycelial growth and sclerotial formation, these twelve metal ions could be divided into three groups: (1) The inhibiting concentration is the highest. There was still a little mycelial growth and sclerotial formation at 2 500 $\mu\text{g/mL}$. Mg^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} and Mn^{2+} belong to this group. Worthy of mention is that Mg^{2+} promoted mycelial growth and increased the dry mass of mycelia at the concentrations of 100 ~ 2 500 $\mu\text{g/mL}$. (2) The inhibiting concentration is higher. When the concentration is 500 or 1 000 $\mu\text{g/mL}$, mycelial growth and sclerotial formation were significantly inhibited. Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} and Zn^{2+} belong to this group. (3) When the concentration is 10 or 50 $\mu\text{g/mL}$, mycelial growth and sclerotial formation were significantly inhibited. Ag^{+} , Hg^{2+} and Cd^{2+} belong to this group.

Key words: metal ions; *Rhizoctonia solani* AG-1-IA; mycelial growth; sclerotial formation

【责任编辑 周志红】