



几种氨基酸铜对大丽轮枝菌微菌核形成的抑制作用

Inhibition of the Cupric Complexes of Amino Acid on Microsclerotia Formation of *Verticillium dahliae*

张进霞¹, 袁洪水², 王士英², 韩继刚¹, 朱宝成^{1,2*}

(1. 河北大学生命科学学院, 保定 071002; 2. 河北农业大学生命学院, 保定 071001)

大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)是引起棉花黄萎病的病原菌,它能以其休眠体-微菌核的形式在土壤中长期存活,并保持对寄主的侵染力。Bell等认为真菌的微菌核黑色素具有抵抗自然界紫外光辐射和土壤微生物侵袭的功能,不少学者认为大丽轮枝菌的微菌核黑色素与菌株致病力有关,黑色素受抑制的菌株致病力降低。外界环境,如温度、杀菌剂等影响大丽轮枝菌微菌核和微菌核色素的形成。

近年来,复合氨基酸铜作为一种新型的杀菌剂已有很多报道。本实验室最早把复合氨基酸铜用于防治棉花黄萎病,并研究了甘氨酸铜对棉花黄萎病株的过氧化物酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶及苯丙氨酸解氨酶活性的影响。但复合氨基酸铜的成分复杂,为了对其抑菌机理作进一步探讨,2004—2005年期间对复合氨基酸铜中的4种主要氨基酸铜进行实验,观察它们对大丽轮枝菌微菌核形成的影响,来研究氨基酸铜对大丽轮枝菌的抑制作用。

Kleb.)。

杀菌剂:甘氨酸铜、丙氨酸铜、谷氨酸铜、苏氨酸铜、复合氨基酸铜溶液,本实验室制备,Cu²⁺浓度均为40 mmol·L⁻¹。

PDA培养基:马铃薯200 g、蔗糖20 g、琼脂18 g,自然pH,加水至1000 mL。用于培养大丽轮枝菌。

大丽轮枝菌孢子悬液的制备:大丽轮枝菌在PDA培养液中培养4~5 d后,用无菌纱布(两层)滤去菌丝及微菌核,加无菌水制成1×10⁶个·mL⁻¹的孢子悬液。

抑菌测定:将各氨基酸铜溶液1 mL分别与49 mL PDA培养基混合,倒平板,待培养基凝固后用直径0.5 cm的打孔器打孔,在孔中接种大丽轮枝菌孢子悬液,每孔15 μL,25℃培养箱中培养,观察菌的生长情况及菌落形态,测量微菌核区直径,并计算微菌核生长抑制率。

抑制率=(对照微菌核区直径-氨基酸铜处理微菌核区直径)/对照微菌核区直径×100%。

1 试验方法

供试菌株:大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)

2 试验结果

将大丽轮枝菌孢子悬液接种在含有氨基酸铜

表1 氨基酸铜对大丽轮枝菌微菌核区形成的影响

Table 1 Effect of cupric complexes of amino-acid on microsclerotia of *Verticillium dahliae* cm

天数/d	对照	甘氨酸铜	丙氨酸铜	谷氨酸铜	苏氨酸铜	复合氨基酸铜
3	-	-	-	-	-	-
4	1.137 黑色	-	-	-	-	-
5	1.564 黑色	-	-	-	1.065 浅褐色	-
6	2.010 黑色	少许浅黄	少许浅黄	少许浅黄	1.486 深黄褐色	少许浅黄色
7	2.305 黑色	1.520 灰色	1.313 浅黄褐色	1.409 浅黄褐色	1.752 深灰色	1.513 浅黄褐色

注:-表示未见微菌核的形成。

收稿日期:2005-09-23 作者简介:张进霞(1977-),女,在读硕士研究生;* 通讯作者, zhu2222@126.com

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(398152)

溶液的培养基上,25℃培养箱中培养。观察微菌核的形成情况,并测定第3—7 d时的微菌核区的直径。

由表1、表2结果可知,5种氨基酸铜化合物对大丽轮枝菌微菌核的形成均有一定的抑制作

用。对照培养的微菌核形成时间早,微菌核区直径大,而且颜色为黑色,用氨基酸铜处理后微菌核出现晚,颜色浅,即黑色素的含量降低。其中丙氨酸铜、谷氨酸铜处理的微菌核区呈浅黄褐色,苏氨酸铜处理的微菌核呈现黄褐色至深灰色。

表2 氨基酸铜对大丽轮枝菌微菌核形成的抑制率

Table 2 Percentage inhibition of cupric complexes of amino acid on microsclerotia of *Verticillium dahliae* %

天数/d	甘氨酸铜	丙氨酸铜	谷氨酸铜	苏氨酸铜	复合氨基酸铜
4	100	100	100	100	100
5	100	100	100	31.9	100
6	100	100	100	26.1	100
7	34.1	38.9	43.0	24.0	34.4

从处理时间来看,各个处理的抑制率的变化不尽相同,总的来说,第3-6 d的效果比较明显,丙氨酸铜、谷氨酸铜、甘氨酸铜和复合氨基酸铜表现为完全抑制,培养第7天时各处理有不等量微菌核形成,比较而言,丙氨酸铜的作用优于其它,而苏氨酸铜对微菌核的抑制作用明显比其它处理差。这几种氨基酸铜制剂的效果依次为:丙氨酸铜、谷氨酸铜、复合氨基酸铜、甘氨酸铜、苏氨酸铜,由此可以看出,复合氨基酸铜的作用效果居中,也就是说在成分复杂的复合氨基酸铜中,可能

是各种成分协同作用来抑制大丽轮枝菌的生长。

目前,棉花黄萎病的防治较困难,控制和减少微菌核的形成可降低初次侵染源。工业生产的复合氨基酸成分复杂,谷氨酸铜、苏氨酸铜、丙氨酸铜、甘氨酸铜在其中的含量较多。通过实验发现,这4种氨基酸铜和复合氨基酸铜在一定程度上都能延迟微菌核的形成时间,减少其形成数量,从而降低大丽轮枝菌在田间的存活率,减少再次侵染。

