

# 铜、锌元素对香蕉枯萎病的防治效果与机理

姬华伟, 郑青松, 董 鲜, 周金燕, 沈其荣, 郭世伟\*

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

**摘 要:** 为寻找香蕉枯萎病防治措施, 通过盆栽试验和室内试验, 研究铜、锌 (EDTA-Cu、EDTA-Zn) 对香蕉尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) 生理特性的影响, 以及锌与拮抗菌 21 号 (SQR21<sup>#</sup>, 多粘芽孢杆菌 *Paenibacillus polymyxa*) 配合使用对香蕉枯萎病的防治效果。结果表明: (1) 用尖孢镰刀菌培养得到的粗毒素处理香蕉幼苗 96 h 后, 对照植株萎蔫严重, 呈枯死状, 添加 EDTA-Cu 或 EDTA-Zn, 显著减轻了粗毒素对香蕉幼苗的伤害。(2) 与对照相比, 添加 EDTA-Cu 或 EDTA-Zn 均显著增加了香蕉尖孢镰刀菌小型分生孢子数量和真菌生物量, 但显著降低了镰刀菌酸的产量, 分别降低 73% 和 96%。(3) 盆栽试验中, 加锌 ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 处理显著降低了香蕉枯萎病的病情指数。其中锌与拮抗菌 21 号菌同时使用防治效果最好, 处理 75 d 病情指数比直接接菌处理降低 62%。(4) 21 号菌显著降低了香蕉根际土壤尖孢镰刀菌数量, 与直接接菌处理相比降低了 18%, 锌与 21 号菌同时使用显著增加了尖孢镰刀菌数量, 比直接接菌处理增加了 30%。上述结果表明, 锌离子可能通过降低香蕉尖孢镰刀菌镰刀菌酸的产量以及增强拮抗菌 21 号菌的生防活性来有效降低香蕉枯萎病的发病率。

**关键词:** 香蕉; 铜; 锌; 多粘芽孢杆菌; 枯萎病; 镰刀菌酸

**中图分类号:** S 668.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 06-1064-09

## Effects and Mechanism of Copper and Zinc Elements on Controlling Fusarium-wilt Disease of Banana

Ji Hua-wei, Zheng Qing-song, Dong Xian, Zhou Jin-yan, Shen Qi-rong, and Guo Shi-wei\*

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** In order to find the measure of controlling the fusarium wilt disease of banana, through pot experiments and laboratory experiments, we investigated the applied effects of EDTA-Cu and EDTA-Zn on the physiological characteristics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, and the combined application of  $\text{Zn}^{2+}$  and the fungal antagonist of the No. 21 bacteria (SQR21<sup>#</sup>, *Paenibacillus polymyxa*) on the suppression on the disease. The results were as follows: (1) Time of 96 hours after treatment the banana seedlings with crude toxin of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, the seedlings of the control treatment wilted severely. However, the treatments of application of EDTA-Cu and EDTA-Zn significantly reduced the disease stress on banana. (2) Application of EDTA-Cu and EDTA-Zn significantly increased the total biomass and the microconidium number of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, but significantly reduced the production of fusaric acid of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Compared with the control

收稿日期: 2012-01-04; 修回日期: 2012-04-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31172020)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: sguo@njau.edu.cn)

treatment, the fusaric acid production with treatments of EDTA-Cu and EDTA-Zn were reduced by 73% and 96%, respectively. (3) In pot experiments, only  $\text{Zn}^{2+}$  addition significantly reduced the banana fusarium wilt disease index. Furthermore, combined application of  $\text{Zn}^{2+}$  and the No. 21 bacteria had a good effect of controlling the disease, and after 75 days of inoculation of banana seedlings, the banana fusarium wilt disease indices were all reduced by 62% compared with the only fungi-inoculated treatment. (4) Only addition of the No. 21 bacteria reduced the spore number by 18% compared to the only fungi-inoculated treatment. However, when combined application of Zn and No. 21 bacteria, the number of the spores was increased significantly by 30%. It was concluded that Zn application might effectively reduce the occurrence of fusarium wilt disease of banana though reducing the fusaric acid production of the pathogen and enhancing the No. 21 bacteria biocontrol activity.

**Key words:** banana; copper; zinc; *Paenibacillus polymyxa*; fusarium wilt disease; fusaric acid

不同的镰刀菌株在适宜条件下侵入寄主植物组织时会产生植物毒素, 引起寄主植物发病或死亡。真菌毒素镰刀菌毒素 (Fusariotoxins) 首先由 Yabuta 等 (1934) 从 *Fusarium heterosporum* Nees 中分离出来, 是一种抑制水稻幼苗生长的化合物。许多镰刀菌都能产生镰刀菌毒素, 对多种植物、真菌和细菌等有毒害作用 (Bacon et al., 1996; Matheron & Koike, 2003; 李春雨 等, 2011; 杨媚 等, 2012)。

香蕉枯萎病又名巴拿马病、黄叶病, 是由尖孢镰刀菌古巴专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) 侵染引起维管束坏死的一种毁灭性、典型的土传病害, 属国际检疫对象 (肖爱萍和游春平, 2005)。该病在广东、海南等香蕉产区都有分布, 发病的香蕉园病株率为 10%~40%, 严重的达 90% 以上, 导致蕉园荒弃 (肖爱萍 等, 2006)。作为一种土传病害, 香蕉枯萎病在防治上难度比较大。目前香蕉枯萎病的防治除了使用无病组培苗和抗病品种起到一定的防治效果外 (Hwang et al., 1994), 其它措施 (如化学防治和农业防治措施) 都很难达到理想的防治效果 (林兰稳 等, 2003)。微量元素和大量元素添加剂在小范围内已用于控制包括番茄枯萎病和其它蔬菜作物在内的一些土传病害 (Engelhard, 1989)。

矿质元素添加降低病害大多是通过改善寄主植物的营养状况而增强其抵御病原真菌的能力, 或者是直接抑制病原菌的生长和活性。矿质元素的添加会引起土壤物理和化学性质以及根际 pH 的改变 (Schnider et al., 1995), 使得植物根系分泌物改变, 增加促进植物生长和具有拮抗作用的微生物菌群 (Elmer, 1995)。多粘芽孢杆菌 (*Paenibacillus polymyxa*) 是一种土壤益生菌, 可以增强作物的抗病能力, 促进作物生长, 提高作物品质 (Timmusk, 2003)。芽孢杆菌的生防机制主要是与病原菌营养和空间位点竞争, 分泌抗菌物质、溶菌作用和促进植物生长等。

生物防治香蕉枯萎病的研究虽然有一些文献报告 (Ownley et al., 1992; Slininger & Shea-Wilbur, 1995; 何欣 等, 2010a; 张璐 等, 2010; 张志红 等, 2010; 左存武 等, 2010; 李文英 等, 2012), 但仍处于起步阶段, 且研究工作主要集中于香蕉拮抗菌的筛选及平板生防试验上, 有关土体拮抗菌与病原菌的相互作用对香蕉枯萎病的防治效果鲜有文献报告。本试验中研究添加矿质元素 EDTA-Cu、EDTA-Zn 对病原菌次生代谢产物镰刀菌酸 (fusaric acid, FA) 产生的影响, 并通过盆栽试验进一步研究微量元素锌与本实验室研制的高效广谱的对香蕉尖孢镰刀菌专化型有较强拮抗作用的拮抗细菌 21 号菌 (SQR21<sup>#</sup>, *Paenibacillus polymyxa*) 的相互作用对香蕉枯萎病的影响, 为寻找香蕉枯萎病的综合防治措施提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

香蕉 (*Musa paradisiaca*) 品种: 巴西香牙蕉 ‘农抗 1 号’; 拮抗菌株: 21 号菌即多粘芽孢杆菌 (SQR21<sup>#</sup>, *Paenibacillus polymyxa*); 香蕉枯萎病病原菌: 尖孢镰刀菌古巴专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) 4 号生理小种; 供试土壤: 水稻土, pH 值 6.42, 有机质 27.06 g · kg<sup>-1</sup>, 全氮 1.64 g · kg<sup>-1</sup>, 全磷 0.49 g · kg<sup>-1</sup>, 速效钾 70.5 mg · kg<sup>-1</sup>, 有效锌含量 3.19 mg · kg<sup>-1</sup>。

病原菌和拮抗菌株均来自于南京农业大学植物营养系菌种保藏室, EDTA-Cu 和 EDTA-Zn 试剂样品购自阿达玛斯试剂公司。

### 1.2 添加铜、锌离子制备的粗毒素对香蕉苗期枯萎病的影响试验

在每个 250 mL 的三角瓶中各加入 100 mL 的 Czapek-Dox 培养基。设 3 个处理: 对照, 即未添加铜、锌元素; 培养基中加入 30 μg · mL<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup> (EDTA-Cu); 培养基中加入 30 μg · mL<sup>-1</sup> Zn<sup>2+</sup> (EDTA-Zn)。每个处理 6 瓶, 试验重复 3 次。三角瓶灭菌后, 将从 PDA 平板上培养的香蕉尖孢镰刀菌刮入无菌水中制得孢子悬液, 然后每瓶加入 10 μL 孢子悬液 (血球计数板计数为 1 × 10<sup>2</sup> 个孢子 · mL<sup>-1</sup>)。于摇床上 30 °C (130 r · min<sup>-1</sup>) 培养 10 d, 然后用两层纱布过滤每个三角瓶中的培养基即得香蕉尖孢镰刀菌的粗毒素滤液。每个含有粗毒素滤液的三角瓶中放入 1 株长有 3 片叶子的香蕉幼苗进行培养。

从香蕉植株出现第 1 株病株开始, 每天调查发病情况, 统计病情指数。病情分级: 0 级为未表现任何伤害症状; 1 级为叶片出现水渍状, 萎蔫不明显; 2 级为全部叶片明显萎蔫; 3 级为叶片全部萎蔫严重呈枯死状。病情指数 = Σ (病害级别 × 各级别植株数) / 供试植株数 (何欣 等, 2010a)。

### 1.3 铜、锌离子对香蕉枯萎病病原菌生长和镰刀菌酸产量的影响试验

在 500 mL 的三角瓶中加入 250 mL 的 Czapek-Dox 培养基。设 3 个处理: 对照, 即未添加铜、锌元素; 培养基中加入 30 μg · mL<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup> (EDTA-Cu); 培养基中加入 30 μg · mL<sup>-1</sup> Zn<sup>2+</sup> (EDTA-Zn)。每个处理 6 瓶。培养方法同上。

培养 10 d 后, 每个三角瓶先用血球计数板观察小型分生孢子数量, 然后将培养液离心得香蕉尖孢镰刀菌的总生物量, 冷冻干燥测其干样质量。离心的上清液用 2 mol · L<sup>-1</sup> HCl 调节 pH 为 2, 然后加入等量的乙酸乙酯, 剧烈震荡 1 min, 取有机相于旋转蒸发仪中 (40 °C) 蒸干, 残余物溶于 1 mL 甲醇 (色谱纯)。镰刀菌酸 (FA) 含量用高效液相色谱 (HPLC, 美国 Waters 公司) 测定 (Notz et al., 2002)。色谱条件: 色谱柱为德国 Merck 公司生产的 Hibar<sup>®</sup> column RT 250 mm × 4.6 mm, 填料直径为 5 μm, 柱温 50 °C; 流动相为色谱纯甲醇/0.43%磷酸 (68/32), 流速 0.7 mL · min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL, 波长 270 nm。样品进样前用 0.45 μm 滤膜抽滤。FA 含量以相对于香蕉尖孢镰刀菌的干物质量表示。

### 1.4 土壤添加锌离子和拮抗菌 21 号对香蕉枯萎病的影响试验

土壤有效锌含量的测定采用 DTPA 方法提取, 然后用原子吸收分光光度法测定 (鲍士旦, 2000)。

试验设 6 个处理。(1) 对照: 水稻土; (2) Zn 处理 (Zn): 水稻土中添加 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O; (3) 病原菌处理 (F), 水稻土接种病原菌; (4) Zn 和病原菌同时处理 (Zn + F), 水稻土添加 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 后再接种病原菌; (5) 病原菌和 21 号菌同时处理 (F + 21), 水稻土接种 21 号菌后接种病原菌; (6) Zn、病原菌和 21 号菌同时处理 (Zn + F + 21), 水稻土加入 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 和 21 号菌后再接入病

原菌。

将过筛 (4 mm) 去除石块和泥块的土壤混匀, 然后每个营养钵装入 0.4 kg 的土, 每个处理 18 个营养钵即 18 个重复, 每个营养钵于 2011 年 5 月 16 日种植 1 株长有 3 片真叶的香蕉苗。土壤添加锌的处理是使用移液枪按每个营养钵  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Zn}^{2+}$  ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 的量加入已制备好的硫酸锌溶液, 然后将 21 号菌按每克土  $10^7 \text{ cfu}$  个细菌的量接入以上接菌处理的土壤中。1 周后将在 PDA 液体培养基中培养 8 d 的香蕉尖孢镰刀菌按每克土  $10^5 \text{ cfu}$  个孢子的量接种入以上接菌处理的土壤中。

常规水肥管理, 从香蕉植株出现第 1 株病株开始, 调查记录发病情况。病情分级: 0 级为未发病; 1 级为 1~2 个叶片萎蔫; 2 级为 1/3~1/2 叶片萎蔫; 3 级为 1/2~3/4 叶片萎蔫; 4 级为全株 3/4 以上叶片萎蔫或死亡。

2011 年 8 月 6 日取香蕉根际土, 用于测定根际土壤尖孢镰刀菌数量。尖孢镰刀菌数量的测定采用何欣等 (2010a) 的方法并加以改进。采用稀释平板计数法, 收集所有粘在香蕉植株根系上的根际土壤后, 称根系质量, 按每 10 g 根加 90 mL 无菌水的比例放入事先装有玻璃珠的三角瓶中, 再将三角瓶放置在摇床上  $170 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  震荡 20 min。将土样梯度稀释成  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$  等不同稀释度的土壤溶液, 用无菌吸管分别由不同稀释度的土壤溶液中各吸取 0.1 mL 放入 Komada 选择性培养基 (Komada, 1975) 平板中, 涂布均匀, 于  $28^\circ\text{C}$  培养箱培养。

试验数据用 Excel 2003 和 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析和显著性水平检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 添加铜、锌离子减轻粗毒素对香蕉幼苗的伤害

如图 1 所示, 随着处理时间的延长, 3 个处理的香蕉幼苗的发病程度都越来越严重, 病情指数均逐渐升高。

粗毒素处理 48 h 时, 对照的香蕉幼苗病情指数达到 1.75, 表现出明显的发病症状。而添加 EDTA-Cu 和 EDTA-Zn 处理的发病症状都不明显, 病情指数均显著降低, 分别比对照降低 29% 和 57%。

处理 96 h 时, 对照植株已呈现严重萎蔫, 甚至枯死, 其病情指数高达 3。而添加 EDTA-Cu 和 EDTA-Zn 处理的香蕉幼苗的发病程度均低于对照处理, 且病情指数均显著降低, 处理 72、96 和 120 h 时, 添加 EDTA-Cu 的处理分别降低 14%、17% 和 8%, 添加 EDTA-Zn 的处理分别降低 57%、50% 和 33%, 说明添加 EDTA-Cu 或 EDTA-Zn 降低了粗毒素的毒性。

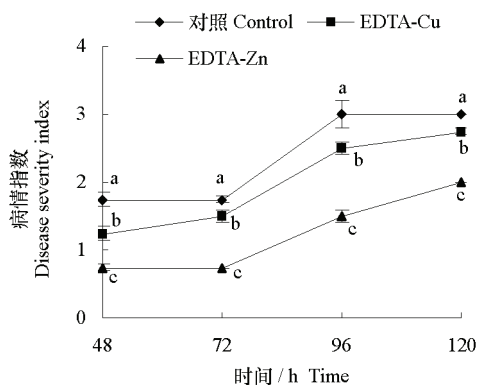


图 1 添加铜、锌离子制备的粗毒素对香蕉苗期枯萎病病情指数的影响

Fig. 1 Effects of crude toxin prepared by the application of Cu and Zn on the disease severity index of the wilt disease in banana seedlings  
 $P < 0.05$ .

### 2.2 添加铜、锌离子促进香蕉枯萎病菌生长和减少镰刀菌酸 (FA) 产量

与对照 (不添加矿质元素) 处理相比, 铜、锌的添加均显著增加了香蕉尖孢镰刀菌的干质量和小型分生孢子数。添加 EDTA-Cu 的处理, 香蕉枯萎病病原菌干质量和小型分生孢子数分别增加 199%

和 162%，添加 EDTA-Zn 的处理分别增加 388%和 198%；EDTA-Zn 处理比 EDTA-Cu 处理对病原菌干质量和小型分生孢子数的影响更显著，与 EDTA-Cu 处理相比，EDTA-Zn 处理的病原菌干质量增加 64%，小型分生孢子数量增加 14%。但是铜、锌的添加都显著降低了 FA 的产量，与对照（不添加矿质元素）处理相比，分别降低 73%和 96%；EDTA-Zn 处理比 EDTA-Cu 处理对香蕉枯萎病病原菌 FA 的产量的抑制更显著，与 EDTA-Cu 处理的 FA 产量相比，EDTA-Zn 处理的 FA 的产量显著降低 85%（表 1）。

表 1 铜、锌离子对香蕉尖孢镰刀菌干质量、小型分生孢子数量和 FA 产量的影响

Table 1 Effects of Cu and Zn on fungal growth, fungal microconidia production and fusaric acid production of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

处理 Treatment	干样质量 / mg Dry weight	小型分生孢子数 / ( $\times 10^6$ cfu $\cdot$ mL $^{-1}$ ) Microconidia number	镰刀菌酸含量 / ( $\mu$ g $\cdot$ mL $^{-1} \cdot$ mg $^{-1}$ DW) Fusaric acid content
对照 Control	113.3 $\pm$ 22.5 c	5.3 $\pm$ 0.35 c	32.4 $\pm$ 1.0 a
EDTA-Cu	338.3 $\pm$ 31.9 b	13.8 $\pm$ 0.61 b	8.7 $\pm$ 0.2 b
EDTA-Zn	553.3 $\pm$ 74.5 a	15.8 $\pm$ 0.85 a	1.3 $\pm$ 0.2 c

注：不同字母表示不同处理间差异显著（ $P < 0.05$ ）。

Note: Different letters indicate statistical difference among different treatments according to Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ).

### 2.3 土壤中添加锌和拮抗菌 21 号减轻香蕉枯萎病病害

香蕉植株接种病原菌 30 d 后开始发病，随着接种时间的推移，各处理的香蕉植株枯萎病发病程度均越来越严重，病情指数逐渐升高（图 2）。

土壤只接种病原菌（F）的香蕉植株的枯萎病的发病程度一直都显著高于添加锌（ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）或 21 号菌的处理。接种病原菌 75 d 时，F 处理的香蕉植株的病情指数高达 3.7，发病严重，香蕉叶片几乎全部萎蔫，而 Zn + F 和 F + 21 的香蕉植株的病情指数都为 1.8，比 F 处理的病情指数显著降低了 51%。Zn + F + 21 的香蕉的病情指数比其它所有处理均低，接种病原菌 50 d 时才表现出发病症状，接菌 75 d 时病情指数仅为 1.4，比只接种病原菌（F）的病情指数降低 62%（图 2）。

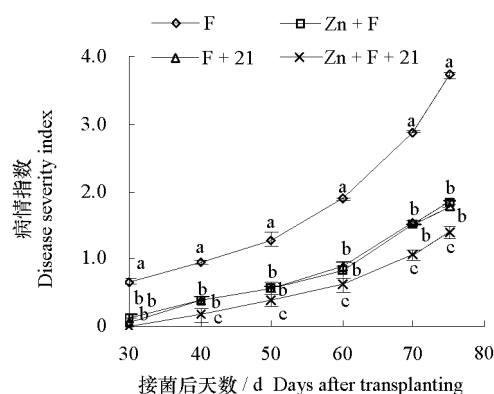


图 2 土壤中添加锌（ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）和拮抗菌 21 号对香蕉枯萎病病情指数的影响

F: 香蕉尖孢镰刀菌；21: 拮抗菌 21 号菌。  $P < 0.05$ 。

Fig. 2 Effects of application of Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) and SQR21<sup>#</sup> in soil on the disease severity index of the banana wilt disease

F: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; 21: The fungal antagonist of the SQR21<sup>#</sup>.  $P < 0.05$ .

### 2.4 土壤添加锌和拮抗菌 21 号后香蕉根际枯萎病菌的数量

从图 3 可以看出，接菌处理的香蕉根际土尖孢镰刀菌数与未接菌的对照相比均显著升高，且加锌（Zn + F）与不加锌（F）处理没有显著变化，即土壤添加锌没有显著抑制尖孢镰刀菌的数量。而添加 21 号菌（F + 21）处理则显著抑制了香蕉根际土尖孢镰刀菌数，比接菌处理显著降低 18%。Zn + F + 21 处理的根际土尖孢镰刀菌数显著增加，与 F、Zn + F、F + 21 处理相比，分别增加了 30%、50% 和 57%（图 3）。

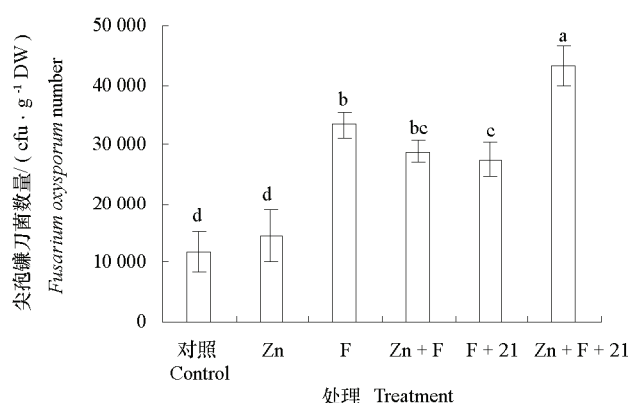


图 3 土壤添加锌 ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 和拮抗菌 21 号后香蕉根际枯萎病菌的数量

DW: 根的干样质量。不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Fig. 3 The number of *Fusarium oxysporum* in rhizosphere after applying of Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) and SQR21<sup>#</sup> in soil

DW: Dry weight of roots. Different letters indicate statistical difference among different treatments according to Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

香蕉枯萎病已成为香蕉产业的最大胁迫因素之一, 几乎危害所有香蕉栽培品种, 且有进一步蔓延的趋势。Duffy 和 Defago (1997) 指出锌 (Zn) 能通过荧光假单胞菌促进番茄镰刀菌根腐病的生物防治。一些报道也指出 Zn 能通过增强寄主的抗性从而降低番茄枯萎病的发生 (Mandal & Sinha, 1992)。添加矿质元素降低病害大多是因为改善了寄主植物的营养状况而增强其抵御病原真菌的能力, 或者是对病原菌生长和活性的直接的抑制作用。病原菌的抑制也可能间接地由于矿质元素的添加引起的土壤物理和化学性质以及根际 pH 的改变 (Schnider et al., 1995), 或者是抑制病原菌活性的植物根系分泌物的改变, 也或是通过增加促进植物生长和具有拮抗作用的微生物菌群。但是一些情况下添加矿质元素降低病害是通过间接地刺激有益于植物的和对病原菌有拮抗作用的微生物菌群的增加实现的 (Jones et al., 1989)。本研究结果表明, Cu 和 Zn 能显著缓解香蕉枯萎病病害, 而且锌的这一缓解效果优于铜。

许多研究指出枯萎病是由尖孢镰刀菌产生的镰刀菌酸 (FA) 引起的, FA 是一种非专化型植物毒素, 此病原菌导致的很多不同作物的枯萎病和根腐病都是由 FA 引起的 (Chakrabarti & Basuchaudhary, 1980)。王贺祥和徐孝华 (1988) 认为, 在一般情况下, 若尖孢镰刀菌的 FA 含量增加, 则病情也加重。周凯南等认为, 尖孢镰孢菌的 FA 对寄主有致萎作用, FA 致萎能力的强弱与致病力呈正相关 (周凯南 等, 1989; 周凯南和张立修, 1990)。因此, 本试验中采用香蕉尖孢镰刀菌培养的粗毒素滤液与铜锌离子结合研究其对香蕉枯萎病的影响。本研究中发现, 由于 FA 产量显著降低的缘故, Cu、Zn 处理的香蕉病情程度明显减轻, 这与王贺祥和徐孝华 (1988) 的研究结果一致, 因此认为铜锌的添加使 FA 致萎能力的减弱可能是由于降低了 FA 的产量。在病情得到控制的同时, Zn 和 Cu 的添加却都增加了香蕉尖孢镰刀菌的总生物量 and 小型分生孢子数, 这与 Duffy 和 Défago (1997) 的研究一致。

铜、锌的添加能降低 FA 产量和增强荧光假单胞菌 4-92 控制鹰嘴豆枯萎病的防治效果 (Saikia et al., 2009)。多粘芽孢杆菌 (*Paenibacillus polymyxa*) 作为植物促生菌的应用有很多的文献报道, 包括氮源的固定 (Lindberg et al., 1985)、磷的溶解、产生抗生素 (Rosado & Seldin, 1993)、几丁

质酶 (Mavingui & Heulin, 1994) 和其它一些水解性酶, 并且增强土壤的透气性 (Gouzou et al., 1993) 等。多粘芽孢杆菌 21 号菌 (SQR21<sup>#</sup>, *Paenibacillus polymyxa*) 是本实验室研制的生物拮抗菌, 用其发酵而成的生物有机肥对连作引起的西瓜枯萎病、黄瓜枯萎病等土传病害均有较好的生防和促生效果 (何欣 等, 2010b)。本研究结果表明, 土壤中添加 21 号菌可明显缓解香蕉枯萎病病情, 而锌的添加则显著增强 21 号菌对香蕉枯萎病的防治效果。

本研究中发现, 锌的添加并不能显著抑制香蕉根际土尖孢镰刀菌的生长, 并且锌的单独添加并不能降低香蕉枯萎病病原菌数量, 但病情却得到显著控制, 这可能是由于锌降低了尖孢镰刀菌 FA 的产量, 这与 Saikia 等 (2009) 的研究结果一致。研究中还发现, 土壤中添加 21 号菌明显降低尖孢镰刀菌数量, 而 21 号菌与锌同时使用时, 尖孢镰刀菌数量没有降低反而又显著增加, 但是病情得到有效的控制。我们认为锌与 21 号菌相互作用后, 锌可能提高了 21 号菌产生的某种拮抗香蕉枯萎病病原菌物质的产量从而起到抗病的效果。Saikia 等 (2009) 研究表明, 铜、锌的添加, 病原菌数没有下降, 但提高了荧光假单胞菌抗生素 2,4 - 二乙酰基间苯三酚 (2,4-diacetylphloroglucinol, 2,4-DAPG) 的产量, 从而增强了生防效果, 这就支持了我们的这一设想。

综上所述, 盆栽试验中, 锌的应用显著降低了香蕉枯萎病的病情, 其中锌与拮抗菌 21 号菌共同使用对控制香蕉枯萎病的病情的效果更好。锌的添加增加了香蕉尖孢镰刀菌总生物量, 但却显著降低了香蕉尖孢镰刀菌次生代谢产物 FA 的产量。同时, 锌的添加可能通过增加拮抗菌 21 号菌某种拮抗物质的产量从而起到提高其对香蕉枯萎病的生防效果。当然, 自然环境中影响枯萎病发生的因素很多, 本试验中主要从香蕉枯萎病病原菌本身着手, 以及采用盆栽试验等方法, 对于其它因素考虑的不够。添加铜、锌和拮抗菌在大田生产中的实际应用效果和测定 21 号菌拮抗物质究竟为何物等问题还需进一步探讨。

## References

- Bacon C W, Porter J K, Norred W P, Leslie J F. 1996. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (11): 4039 - 4043.
- Bao Shi-dan. 2000. Soil and agricultural chemistry analysis. Beijing: China Agriculture Press: 262 - 271. (in Chinese)
- 鲍士旦. 2000. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社: 262 - 271.
- Chakrabarti D K, Basuchaudhary K C. 1980. Correlation between virulence and fusaric acid production in *Fusarium oxysporum* f. sp. *carthami*. *Journal of Phytopathology*, 99 (1): 43 - 46.
- Duffy B K, Défago G. 1997. Zinc improves biocontrol of *Fusarium* crown and root rot of tomato by *Pseudomonas fluorescens* and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis. *Phytopathology*, 87 (12): 1250 - 1257.
- Elmer W H. 1995. Association between Mn-reducing root bacteria and NaCl applications in suppression of *Fusarium* crown and root rot of asparagus. *Phytopathology*, 85 (12): 1461 - 1467.
- Engelhard A W. 1989. Soilborne plant pathogens: Management of diseases with macro- and microelements. St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press: 184.
- Gouzou L, Burtin G, Philippy R, Bartoli F, Heulin T. 1993. Effect of inoculation with *Bacillus polymyxa* on soil aggregation in the wheat rhizosphere: Preliminary examination. *Geoderma*, 56 (1 - 4): 479 - 490.
- He Xin, Hao Wen-ya, Yang Xing-ming, Shen Qi-rong, Huang Qi-wei. 2010a. Effects of bioorganic fertilization on growth and controlling fusarium-wilt disease of banana. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 16 (4): 978 - 985. (in Chinese)
- 何 欣, 郝文雅, 杨兴明, 沈其荣, 黄启为. 2010a. 生物有机肥对香蕉植株生长和香蕉枯萎病防治的研究. *植物营养与肥料学报*, 16 (4): 978 - 985.

- He Xin, Huang Qi-wei, Yang Xing-ming, Ran Wei, Xu Yang-chun, Shen Biao, Shen Qi-rong. 2010b. Screening and identification of pathogen causing banana fusarium wilt and the relationship between spore suspension concentration and the incidence rate. *Scientia Agricultura Sinica*, 43 (18): 3809 – 3816. (in Chinese)
- 何 欣, 黄启为, 杨兴明, 冉 炜, 徐阳春, 沈 标, 沈其荣. 2010b. 香蕉枯萎病致病菌筛选及致病菌浓度对香蕉枯萎病的影响. *中国农业科学*, 43 (18): 3809 – 3816.
- Hwang S C, KO W H, Chao C P. 1994. A promising Cavendish clone resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Protection Bulletin*, 36: 281 – 291.
- Jones J P, Engelhard A W, Woltz S S. 1989. Management of fusarium wilt of vegetables and ornamentals by macro- and microelement nutrition// Engelhard A W. *Soil borne plant pathogens: Management of diseases with macro-and microelements*. St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press: 18 – 32.
- Komada H. 1975. Development of selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Review of Plant Protection Research*, 8: 114 – 125.
- Li Chun-yu, Chen Shi, Zuo Cun-wu, Kuang Rui-bin, Yi Gan-jun. 2011. Identification of beauvericin, a novel mycotoxin from *Fusarium oxysporum* sp. *cubense*. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (11): 2092 – 2098. (in Chinese)
- 李春雨, 陈 石, 左存武, 邝瑞彬, 易干军. 2011. 香蕉枯萎病菌新毒素——白僵菌素的鉴定. *园艺学报*, 38 (11): 2092 – 2098.
- Li Wen-ying, Peng Zhi-ping, Yang Shao-hai, Yu Jun-hong, Huang Ji-chuan, Wu Xue-na, Yang Lin-xiang. 2012. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and controlling fusarium-wilt disease of banana seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (2): 234 – 242. (in Chinese)
- 李文英, 彭智平, 杨少海, 于俊红, 黄继川, 吴雪娜, 杨林香. 2012. 植物根际促生菌对香蕉幼苗生长及抗枯萎病效应研究. *园艺学报*, 39 (2): 234 – 242.
- Lin Lan-wen, Xi Wei-peng, Huang Sai-hua. 2003. Selection of fungicides for controlling banana blight resulted from *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Ecology and Environmental Sciences*, 12 (2): 182 – 183. (in Chinese)
- 林兰稳, 奚伟鹏, 黄赛花. 2003. 香蕉镰刀菌枯萎病防治药剂的筛选. *生态环境*, 12 (2): 182 – 183.
- Lindberg T, Granhall U, Tomenius K. 1985. Infectivity and acetylene reduction of diazotrophic rhizosphere bacteria in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under gnotobiotic conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 1 (3): 123 – 129.
- Mandal N C, Sinha A K. 1992. An alternative approach for the chemical control of Fusarium wilt of tomato. *Indian Phytopathology*, 45: 194 – 198.
- Matheron M E, Koike, S T. 2003. First report of *Fusarium* wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* in Arizona. *Plant Disease*, 87 (10): 1265.
- Mavingui P, Heulin T. 1994. In vitro chitinase and antifungal activity of a soil, rhizosphere and rhizoplane population of *Bacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 26 (6): 801 – 803.
- Notz R, Maurhofer M, Dubach H, Haas D, Défago G. 2002. Fusaric acid-producing strains of *Fusarium oxysporum* alter 2, 4-Diacetylphloroglucinol biosynthetic gene expression in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 *in vitro* and in the rhizosphere of wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (5): 2229 – 2235.
- Ownley B H, Weller D M, Thomashow L S. 1992. Influence of in situ and *in vitro* pH on suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79. *Phytopathology*, 82 (2): 178 – 184.
- Rosado A S, Seldin L. 1993. Production of a potentially novel anti-microbial substance by *Bacillus polymyxa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 9 (5): 521 – 528.
- Saikia R, Varghese S, Singh B P, Arora D K. 2009. Influence of mineral amendment on disease suppressive activity of *Pseudomonas fluorescens* to fusarium wilt of chickpea. *Microbiological Research*, 164 (4): 365 – 373.
- Schnider U, Keel C, Blumer C, Troxler J, Défago G, Haas D. 1995. Amplification of housekeeping factoring *Pseudomonas fluorescens* CHA0 enhances antibiotic production and improves biocontrol abilities. *Bacteriology*, 177 (18): 5378 – 5392.
- Slininger P J, Shea-Wilbur M A. 1995. Liquid-culture pH, temperature, and carbon (not nitrogen) source regulate phenazine productivity of the

- take-all biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2-79. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43 (5): 794 – 800.
- Timmusk S. 2003. Mechanism of action of the plant growth promoting bacterium *Paenibacillus polymyxa*. Uppsala, Sweden: Uppsala University: 7 – 11.
- Wang He-xiang, Xu Xiao-hua. 1988. Correlation between virulence and production of fusaric acid of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 18 (2): 99 – 102. (in Chinese)
- 王贺祥, 徐孝华. 1988. 棉花枯萎病菌镰刀菌酸的产生和致病力的关系. *植物病理学报*, 18 (2): 99 – 102.
- Xiao Ai-ping, You Chun-ping. 2005. Advances on control of banana vascular wilt. *Jiangxi Plant Protection*, 28 (2): 67 – 69. (in Chinese)
- 肖爱萍, 游春平. 2005. 香蕉枯萎病防治进展. *江西植保*, 28 (2): 67 – 69.
- Xiao Ai-ping, You Chun-ping, Liang Guan-ping, Huang Yi-yan. 2006. Selection of the antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and their action mechanisms. *Plant Protection*, 32 (4): 53 – 56. (in Chinese)
- 肖爱萍, 游春平, 梁关平, 黄益燕. 2006. 香蕉枯萎病拮抗菌的筛选及其作用机制研究. *植物保护*, 32 (4): 53 – 56.
- Yabuta L, Kambe K, Hayashi T. 1934. Biochemistry of the bakanae-fungus, I. Fusaric acid, a new product of the bakanae-fungus. *Journal of Agricultural Chemistry*, 10: 1059 – 1068.
- Yang Mei, Huang Yong-hui, Shu Can-wei, Li Yu-ting, Zhou Er-xun. 2012. Studies on the characteristics of crude toxin produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race 4. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (3): 545 – 551. (in Chinese)
- 杨 媚, 黄永辉, 舒灿伟, 李瑜婷, 周而勋. 2012. 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种粗毒素特性的研究. *园艺学报*, 39 (3): 545 – 551.
- Zhang Lu, Ding Yan-qin, Du Bing-hai, Wei Min, Wang Xiu-feng. 2010. Identification and biocontrol effects of antagonistic bacterium DS-1 strain against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (4): 575 – 580. (in Chinese)
- 张 璐, 丁延芹, 杜秉海, 魏 珉, 王秀峰. 2010. 黄瓜枯萎病病原拮抗细菌 DS-1 菌株鉴定及其生防效果研究. *园艺学报*, 37 (4): 575 – 580.
- Zhang Zhi-hong, Feng Hong, Xiao Xiang-zheng, Li Hua-xing. 2010. Influence of bio-fertilizers on control of banana wilt disease and soil microbial diversity. *Journal of Fruit Science*, 26 (4): 575 – 579. (in Chinese)
- 张志红, 冯 宏, 肖相政, 李华兴. 2010. 生物肥防治香蕉枯萎病及对土壤微生物多样性的影响. *果树科学*, 26 (4): 575 – 579.
- Zhou Kai-nan, Zhang Li-xiu. 1990. Determination of the pathogenicity of watermelon fusarium of wilt pathogen. *Journal of Shandong Agricultural University*, 21 (1): 43 – 46. (in Chinese)
- 周凯南, 张立修. 1990. 西瓜枯萎病菌致病力的测定. *山东农业大学学报*, 21 (1): 43 – 46.
- Zhou Kai-nan, Zhang Li-xiu, Lü Shi-en. 1989. Bioassay of toxin culture filtrate of several phytopathogenic strains. *Journal of Shandong Agricultural University*, 20 (3): 79 – 82. (in Chinese)
- 周凯南, 张立修, 吕士恩. 1989. 几种植物致病镰刀菌毒素滤液的生物测定. *山东农业大学学报*, 20 (3): 79 – 82.
- Zuo Cun-wu, Sun Qing-ming, Huang Bing-zhi, Li Chun-yu, Yi Gan-jun. 2010. Screening method for resistance to fusarium wilt of banana basing on green fluorescent protein tagged pathogen and root exudates. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (5): 713 – 720. (in Chinese)
- 左存武, 孙清明, 黄秉智, 李春雨, 易干军. 2010. 利用根系分泌物与绿色荧光蛋白标记的病原菌互作关系鉴定香蕉对枯萎病的抗性. *园艺学报*, 37 (5): 713 – 720.