

玉米茎腐病病菌毒素的研究(Ⅱ)

陈捷 唐朝荣 宋佐衡

秦利

(沈阳农业大学, 沈阳 110161)

(辽宁省农资公司)

On Toxins Produced from Stalk Rot Pathogens in Maize

Chen Jie Tang Chaorong Song Zuoheng

Qinli

(Shenyang Agricultural University,
Shenyang 11016)(Liaoning Agricultural Production
Means Company)

Abstract: The two stalk rot pathogens, *Pythium aphanidermatum* and *Fusarium graminearum*, could produce toxins that inhibited corn seed germination and seedling growth. *Fusarium* toxin production was increased as the time of pathogen cultivation, but without linear relationship between toxin production and pathogen pathogenicity. In the culture filtrate of *F. graminearum*, there were some factors to inhibit toxin biological activities. And it was also found that the toxin from *F. graminearum* showed obvious hydrophilic nature.

Key words: Corn stalk rot; Toxin

摘要 本文报道了两种茎腐病病菌均可以产生毒素抑制种子萌发和幼苗生长。病菌随着培养时间延长,产毒素量增加,但与病菌致病力无线性关系。禾谷镰刀菌培养液中可能含有抑制毒素活性的因子。禾谷镰刀菌产生的毒素亲水性较强。

关键词 玉米茎腐病 病菌 毒素

玉米茎腐病属世界性病。目前,关于该病病原学、发生规律及综防技术报道较多,但对于玉米茎腐病病菌毒素在病程中的作用尚未深入研究,本文将报道如下:

1 材料与方法

1.1 供试菌种与品种

供试菌种为禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*) (Fg94028)和瓜果腐霉菌(*Pythium aphanidermatum*) (Pa94011)。供试品种为感病品种掖单13。

1.2 病菌的繁殖与接种

将复壮的病菌菌片接种到玉米粒培养基上,然后在27℃下恒温培养2、4、6、8、10、12天,每天振动一次。按不同培养菌龄取培养物

(270克/瓶)与无菌土混合,接种量控制在土壤重量的3%,播种感病品种,每花盆播5粒,3叶期调查病情指数。病情分级标准参照徐作珏标准,略有改动^[1]。

1.3 病菌毒素的提取

将培养菌龄分别为2、4、6、8、10、12天的玉米粒培养物400克(湿重),按1:1(W/V)比例与甲醇混合,浸泡过夜,滤出甲醇液。将禾谷镰刀菌在Richard液体培养基中27℃下分别培养3、6、9、12、15天,经过滤、离心(10000g, 20分)后,取上清液121℃下灭菌10分钟,以便钝化酶活。将上述甲醇液或液体培养滤液通过活性炭柱(4×34cm)进行吸附层析。用300毫升甲醇液洗脱炭柱,每次100毫升,分部收集。然后将不同洗脱组分进

一步用氯仿—热甲醇纯化,最后在 70℃下浓缩成红褐色结晶。

1.4 毒素对玉米幼苗生长的影响

用含毒素的培养滤液测定它们对种子萌发和根、胚芽生长的影响。根据康霄文和陈捷的方法^[2],用滤液处理催芽、露白的种子,4天后,测定种子萌发抑制率和、根、胚芽生长抑制率。胚根长达种子长度 1/2 记为发芽。种子萌发抑制率(%)=(对照种子萌发率—处理种子萌发率)/对照种子萌发率×100;根(芽)长抑制率(%)=[对照种子平均根(芽)长—处理种子平均根(芽)长]/对照种子平均根(芽)长。同时用培养滤液处理萌发 3 天的种子 12~32 小时,观察株高、根系的变化毒素的活性测定采用电导法。取萌发 5 天的种子根剪成小段,用 DDS-11A 型电导率仪在 22℃下测定毒素处理和对照根系的电解质浸出液电导率。最后计算毒素对叶片组织细胞膜的损伤率。细胞膜损伤率(%)=(处理电导率—对照电导率)/煮沸电导率×100。

2 结果与分析

2.1 不同菌龄对病菌致病力及产毒的影响

研究结果表明:禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)随培养菌龄的增加,根鲜重和株高趋于增加,病情指数下降。2 天菌龄的接种菌致病力最强。瓜果腐霉菌(*Pythium aphanidermatum*)在 4 天培养菌龄时致病力最强,然后随菌龄增加致病力下降(表 1)。

表 1 不同菌龄对茎腐病菌致病力的影响

菌龄 (天)	接种腐霉菌			接种镰刀菌		
	根重 (g)	株高 (cm)	病情 指数	根重 (g)	株高 (cm)	病情 指数
2	0.203	14.3	65.0	0.548	10.0	67.5
4	0.092	10.4	75.0	0.775	16.6	31.3
6	0.263	16.2	60.0	0.790	16.5	30.0
8	0.286	17.6	57.5	0.855	20.1	28.9
10	0.347	17.4	50.0	0.810	19.4	23.3
12	0.378	17.7	45.0	0.830	20.6	22.5
ck	0.934	22.83	—	1.085	21.5	—

进一步研究发现,随菌龄增加,无论是禾谷镰刀菌还是瓜果腐霉菌产毒量逐渐增加。

就同一菌龄而言,禾谷镰刀菌的产毒量明显高于瓜果霉菌。虽然瓜果霉菌和禾谷镰刀菌分别是在 4 天和 2 天菌龄时致病力最强,但产毒素量却不是这两个菌龄最多,两者无对应关系(表 2)。

表 2 不同菌龄与茎腐病菌菌产毒量的关系

菌龄(天)	腐霉菌(g)	镰刀菌(g)
2	0.665	0.653
4	1.088	2.428
6	2.610	3.542
8	3.095	4.220
10	3.382	4.614
12	3.501	4.797

注:该毒素为粗提纯。

2.2 毒素对玉米种子萌发及幼苗生长影响

2.2.1 毒素滤液对种子萌发的影响

研究结果表明:随着培养时间延长,镰刀菌产生的滤液对芽长、根长、根数有明显的抑制作用,种子根细胞膜也发生明显的损伤。培养到 12~13 天的滤液对种子萌发及根生长的抑制作用达到最大(表 3)。进一步研究发现镰刀菌毒素滤液不同洗脱部分对种子萌发的抑制活性明显不同,其中无离子水洗脱部分对种子萌发和胚根生长抑制最明显(表 4)。

表 3 不同培养时间镰刀菌滤液对种子萌发及根生长影响

培养时间 (天)	芽长抑制率 (%)	根长抑制率 (%)	根数抑制率 (%)	种子根细胞膜 损伤率*(%)
3	57.85	78.02	38.18	4.83
6	72.43	80.01	50.91	—
9	72.43	88.51	62.00	2.07
12	79.97	96.90	76.36	—
15	82.21	93.90	76.36	6.21
ck	—	—	—	—

* 种子龄为 5 天龄

表 4 禾谷镰刀菌毒素不同洗脱部分对种子萌发的影响

洗脱部分	种子萌发率(%)	胚根长度(cm)
培养原液	90	1.44
活性炭未吸附部分	85	0.77
无离子水洗脱部分	75	0.76
无离子水	100	3.44

2.2.2 毒素对幼苗生长的影响

(上接第 37 页)

用 20% 镰刀菌滤液按 12、24、32 小时处理萌发 48 小时的幼芽,无离子水洗净后,置于培养皿上保温培养,3 叶期进行调查。结果发现滤液处理幼芽 24 小时,即可明显抑制其生长。

表 5 镰刀菌培养滤液对幼苗生长的抑制作用*

测定指标	处 理 时 间			
	12 小时	24 小时	32 小时	ck
净增株高(cm)	12.71	5.25	5.61	13.71
净增根长(cm)	4.4	0.00	0.00	10.60
净增根数	7.44	3.00	2.50	8.50

* 培养滤液稀释 20%

3 结论与讨论

3.1 茎腐病病菌离体培养产生毒素与病菌致病力无明显对应关系

研究中发现,致病力最强的培养菌龄,并不是产生毒素最多的菌龄。造成这种结果可能有以下几种原因:①除毒素以外可能还有其它决定致病性的因子。②说明病菌在离体下培养产生毒素的情况与活体条件下不同。

③两种病菌产生的毒素具有非寄主专化性毒素特点。

3.2 茎腐病病菌产生的毒素是重要的侵染手段

目前已经证明:两种茎腐病病菌都能产生毒素,对种子萌发和幼苗生长有明显抑制作用。由于茎腐病潜育期比较长,所以毒素在病组织内逐渐积累可能是造成危害的重要因素。镰刀菌产生的毒素的致病作用可能比腐霉菌更大一些。

3.3 禾谷镰刀菌培养液中可能含有抑制毒素活性的物质

研究中可以明显看出培养原液的致病活性明显低于活性炭未吸附的部分和无离子水洗脱的部分,说明原液中有抑制毒素活性的因子,同时也反映该毒素亲水性比较强。

主要参考文献

- ①徐作珏等,山东玉米茎腐病病原菌的初步研究,《植物病理学报》,1985,15(2),103-108
- ②康霄文,陈捷等,水稻纹枯病菌毒素研究,《沈阳农业大学学报》,1992 年 23(1),19-22