

Fusarium oxysporum 毒素 对大豆致病作用的初步研究

韩庆新

辛惠普

(黑龙江省农科院) (黑龙江八一农垦大学)

摘 要

Fusarium oxysporum 分泌的毒素是一种非专化性毒素,经毒素处理,大豆种子的萌发和根系正常的生长发育受到明显抑制,大豆幼苗也迅速发生萎蔫;毒素和病原菌菌体的共同接种,加重了病害的发生。试验表明毒素对大豆显示了较强的毒性作用。

大豆根腐病是影响黑龙江省大豆生产的重要病害之一,常年减产在 10~20% 左右。*Fusarium oxysporum* 不仅田间分离频率高,而且对大豆具有较强的致病性,是黑龙江省大豆根腐病发生过程中的主要致病病原菌。该菌危害幼苗的下胚轴和主根产生红褐色凹陷病斑。细胞和组织的坏死是由于病原菌的侵入以及分泌的毒素、酶等与植株相互作用的结果,*F. oxysporum* 产生的毒素是一种非专化性毒素,它的致病作用在很多植物上已得到证明,但在大豆根腐病发生中的作用还未见有详细报道。研究尖镰孢毒素的致病作用,可用自培养液中提取并纯化的结晶进行定量研究,也可直接用病菌的培养滤液反应出病原菌分泌物总体的致病效应,因此,本研究利用病菌培养滤液针对大豆的毒性作用作了初步探讨。

材料和方法

1. 供试菌种和寄主

供试 *F. oxysporum* 系从田间大豆根部病组织分离,并由中科院微生物所协助鉴定。寄主品种选用黑农 26,由黑龙江八一农垦大学农学系大豆育种室提供。

2. 毒素液的制备

将纯化的 *F. oxysporum* 接种于改订 Czapek 氏培养液中,25℃ 振荡培养 30 天,培养液经过滤离心去掉菌丝和杂质,然后将清液煮沸 10 分钟消除培养液中的酶活性和可能残存的孢子和菌丝体片段,再离心作为粗提毒素液使用。

改订 Czapek 氏培养液成分:

KNO₃ 3 克, KH₂PO₄ 1 克, MgSO₄ 0.5 克, KCl 0.5 克, Fe₂(SO₄)₃ 少量,葡萄糖 30 克,蒸馏水 1000 毫升。

结果分析

(一) 毒素对大豆种子萌发的影响

将人工挑选的大豆种子置于培养皿中加入用无菌水配制的不同浓度的毒素粗提液后,25℃ 下进行萌发试验,一定时间后测定种子的萌发率和胚根的长度。

注:本文得到沈阳农业大学白金铠教授、朱有钰教授的指导和帮助,在此表示感谢。

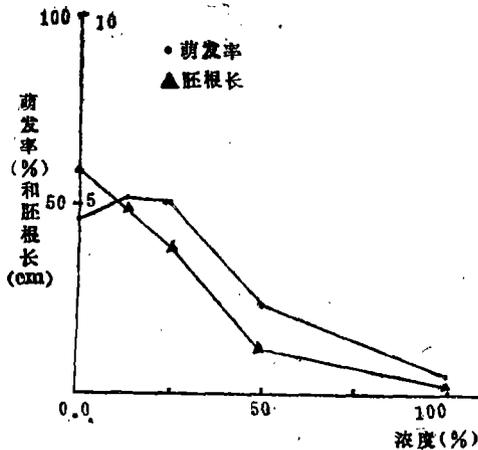


图1 毒素对大豆种子萌发(48小时)和胚根伸长(96小时)的影响

结果表明(见图1), *F. oxysporum* 产生的毒素对大豆种子的萌发以及胚根的生长表现有很强的抑制作用,随着毒素浓度的上升,种子萌发率和胚根长度显著减少,两者间呈明显的负相关,相关系数分别为0.90和0.89。

(二) 毒素对幼苗根系生长发育的影响

1. 毒素对幼根生长的影响

将大豆种子用湿毛巾法在25℃恒温箱内进行萌发,2~3天后将发芽种子移入盛有不同浓度梯度的大培养皿中,移入前计测种子幼根的长度,生长48小时后取出再测量幼根的增加长度。

图2的试验结果表明,毒素对大豆幼根生长也有强烈的抑制作用。原液(毒素未经

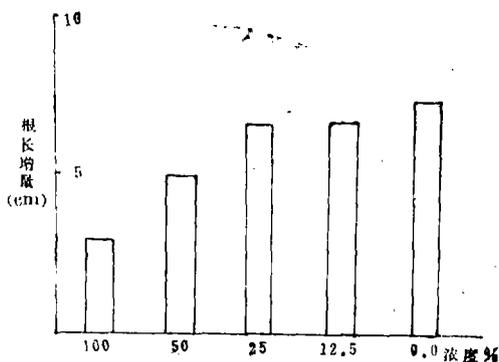


图2 毒素对大豆幼根生长的影响

稀释)和对照间差异明显,幼根的生长量随毒素浓度的提高而降低,两者间呈明显负相关,相关系数为0.99。

2. 毒素对大豆幼苗根活力的影响

将大豆种子播于无菌土中,两周后获得无病幼苗(子叶期),将根系洗净后置于盛有不同浓度毒素的烧杯中(烧杯周围用黑纸包裹),6小时后利用甲烯兰吸附法测定幼苗的根活力,以自来水为对照。结果见表1。

不同浓度毒素的处理,幼苗的根活力之间存在着明显差异,随着毒素浓度的增加,根系的活跃吸收面积和活跃比表面积受到的抑制作用也越强烈。毒素和根系活跃吸收面积之间呈明显的线性负相关,相关系数 $r = 0.85$ 。

表1 毒素对大豆幼苗根活力的影响

毒素浓度%	根系吸收面积 m^2		活跃吸收面积 %	根体积 ml	比表面积 m^2/ml	
	总的	活跃的			总的	活跃的
0.0	0.53	0.19	35.4	10	5.28	1.87
12.5	0.48	0.14	29.0	13	3.94	1.08
25	0.48	0.13	27.1	16	2.98	0.82
50	0.39	0.09	24.4	12.5	3.22	0.86
100	0.10	0.04	20.3	17.5	0.55	0.12

据辛惠普等人报道,田间不同发病级别的病苗其根活力也表现不同。可见,大豆根系直接在真菌和其分泌物的危害之下,是造成出苗率降低,根活力下降,幼苗生长势衰弱的重要原因之一。

(三) 毒素对大豆幼苗的致萎作用

将子叶期无病大豆菌,分别用不同毒素浓度浸泡处理,于不同时间调查幼苗的生活状态,结果表明(见图3),不同浓度毒素处理的大豆幼苗表现的萎焉程度也不同。在100%毒素原液中的幼苗6~8小时后萎焉率达70%,24小时后达100%。而在50%浓度中的大豆幼苗,7小时后才出现萎焉,21小时后达70%,30小时后达100%,对照清水中的幼苗则始终未出现萎焉,说明毒素对大豆幼苗有强烈的致萎作用。

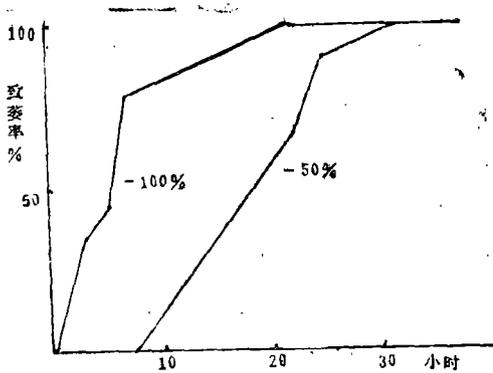


图3 毒素对大豆幼苗的萎蔫作用

(四)毒素在大豆苗期根腐病发生中的作用

取苗龄一周左右大豆幼苗，将根部洗净后浸泡于 *F. oxysporum* 毒素液中，6 小时后将幼苗移栽于灭菌土和接种尖镰孢菌的菌土中（接种量为玉米砂培养菌，灭菌土比例为 3:30），两周后调查幼苗的发病率和病情严重程度。对照是浸泡于自来水中的，幼苗移栽于接种菌土中。

表2 毒素对大豆幼苗的致病作用

项目	发病率 %	病情指数 %
毒素	41.1	18.0
菌体+毒素	50.0	15.0
菌体	25.0	13.0

结果见表2，人工接种病原菌和毒素处理后幼苗都表现了一定的发病，但各处理间病变部位症状表现不同。经毒素处理的病变部位表现为表皮组织褐变，褐变部位不凹

陷，而病原菌体处理的幼苗根部病斑表现为凹陷的红褐色病斑。毒素和病原菌体的协同作用使大豆根腐病的发生率明显增加，原因是由于毒素的作用使幼苗根部受害部位的细胞组织受到破坏，造成生活力衰弱，抗性降低，利于非专性寄生菌 *F. oxysporum* 的侵入和致病。可见田间大豆除了受病原菌的直接侵入外，尚受到病菌分泌毒素的协同危害。

结 论

关于 *F. oxysporum* 毒素对大豆幼苗的危害作用目前尚未见有详细报道，将该病原菌人工培养的粗提毒素液处理大豆种子和幼苗后的试验结果表明，毒素能强烈抑制大豆种子的萌发和根系正常的生长发育，对大豆幼苗显示了较强的毒性作用。由于毒素的作用，幼苗可迅速出现萎焉，同时由于幼苗根部的表皮组织受到毒害死亡，有利病原菌的侵入和扩展，导致大豆根腐病的发生更加严重。

参考文献

- 俞大峻：植物病理学和真菌学技术汇编〔2〕，人民教育出版社，1977
- 辛惠普等：大豆根腐病发生规律和综合防治的研究，黑龙江八一农垦大学学报，1985,1:19~37
- 安美玉等：尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* Schl.) 在液体(表层)培养时的产毒素条件，微生物学通报，1982, 9(2): 73~75
- 西村正昭：植物防疫，1967,21(9):364~368

