

茄子黄萎病菌毒素液对茄种子发芽及幼苗生长的毒害作用

刘正坪, 王若菁, 张富荣, 塔娜, 田维平

(内蒙古农业大学, 呼和浩特 010018)

摘要: 试验用 Czapek's 培养液培养茄子黄萎病菌 (*Verticillium dahliae*), 经过滤、离心和透析, 分别得到其培养滤液、粗毒素液。测试了培养滤液对茄子抗、感病品种种子发芽、根生长的毒害作用及粗毒素对茄幼苗的致萎作用。结果表明, 茄黄萎病菌毒素液对茄种子发芽、根的生长及幼苗都有一定的毒害作用。

关键词: 茄黄萎病菌; 毒素; 毒害作用

中图分类号: S436.41, S432.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2001)01-0063-04

茄子黄萎病是茄子生产上一种主要病害, 全国各地均有发生, 近年来随着茄子种植面积
 的扩大, 黄萎病日趋严重。该病原菌为土壤习居菌, 具有高度抵抗不良环境的能力, 难于防
 治。因此, 抗病品种的选育和利用在生产上发挥了较好的防病作用。但目前对茄子抗黄萎病
 品种的筛选和鉴定, 主要采用常规的田间病圃接种鉴定或在自然发病条件下鉴定, 受环境影
 响大, 鉴定标准难于掌握, 结果不稳定, 而且速度慢, 影响了抗病品种的选育进程。近年有关
 资料报道, 病菌分泌的代谢物可同样对寄主起致病作用。根据这一特性, 研究茄子黄萎病菌
 培养液及毒素对茄种子发芽、根的生长及幼苗的毒害作用, 探讨寄主与病原菌毒素间的相互
 关系, 对于探寻有效的品种抗病性鉴定的方法和筛选新抗源的途径是非常有价值的。国内许
 多植物病理学者对棉花黄萎病菌培养液进行了生物毒性测定^[1-3], 但对茄子黄萎病菌毒素对
 寄主的毒害作用报道甚少。本文主要针对不同浓度的茄子黄萎病菌培养液和粗毒素液对抗、
 感病茄品种的种子发芽、根的生长及幼苗的毒害作用进行了初步报道, 为茄子抗病品种的鉴
 定、加速抗病品种育种进程提供切实的依据。

1 材料和方法

供试菌种: 茄子黄萎病菌 (*Verticillium dahliae*) 由内蒙古农牧学院农场自然病圃的病株
 上分离纯化得到。

供试品种: 北京紫圆(感)、三月青(抗)

1.1 病菌培养液及粗毒素的制备

将茄子黄萎病菌在 PDA 平板上扩大培养后, 切取直径 6 mm 菌块接种于盛有 150 mL

收稿日期: 1999-12-17

基金项目: 内蒙古教育厅资助项目

作者简介: 刘正坪(1958-), 女, 副教授, 主要从事植物抗病生理和抗病育种工作。

Czapek's 培养液(KNO_3 2 g, K_2HPO_4 1 g, KCl 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, FeSO_4 0.01 g, 蔗糖 30 g, 定容至 1000 mL)的三角瓶中, 每瓶 5 块, 25℃、110 r/min、12 h 交替振荡培养 14d。用 8 层纱布过滤, 在 3000 r/min 离心 20 min, 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得无菌的病菌培养滤液。将培养滤液置入旋转蒸发仪常温减压浓缩至原体积的 1/40, 再经 11 000 r/min 离心 10 min, 取上清液经 5 mmol/L 磷酸钾缓冲液透析 24 h, 得到粗毒素。^[2]

1.2 培养滤液对种子萌发、根生长的毒害作用

将三月青(抗)、北京紫圆(感)2 个品种的种子用清水浸泡 24 h 后, 常规表面消毒。用无菌水将病菌培养液分别稀释成含毒素浓度为 80, 60, 40, 20 $\mu\text{g/mL}$ 4 个梯度。将表面消毒后的 2 个品种种子分别置入铺有灭菌滤纸的灭菌培养皿中, 100 \pm 2 粒/皿, 分别加入以上 4 个梯度的培养滤液, 以无菌水处理的为对照, 于 25℃恒温箱中催芽, 待茄子露白后转移到发芽垂直板上, 并继续用相应浓度的培养滤液处理, 14 d 时记录发芽率、测量根长度。

1.3 粗毒素对茄幼苗的致萎作用

取 2~3 片真叶无菌土中培育的茄幼苗, 切根后浸入盛有含毒素浓度分别为 40, 30, 20, 10, 5, 3 $\mu\text{g/mL}$ 的粗毒素液的指形管中, 并设不含毒素的营养液浸泡的幼苗为对照, 逐日观察幼苗失水萎蔫程度。

2 结果与分析

2.1 培养滤液对种子发芽、根生长的毒害作用

不同浓度培养液处理茄子抗、感病品种的种子, 结果见表 1。不同浓度毒素处理的茄种

表 1 不同浓度培养液对种子发芽的毒害作用

毒素浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	发芽率(%)		平均根长(cm)	
	北京紫圆(感)	三月青(抗)	北京紫圆(感)	三月青(抗)
ck	91.1	92.1	3.52	3.71
20	63.4	89.1	3.66	4.81
40	78.2	82.0	4.07	4.63
60	66.3	79.4	3.04	3.65
80	50.5	76.5	2.21	2.83

子, 发芽率有明显的差异, 毒素浓度越高, 发芽率越低。毒素浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$, 抗、感病品种发芽率分别为 89.1%和 63.4%; 毒素浓度增大到 80 $\mu\text{g/mL}$ 时, 抗、感品种发芽率仅为 76.5%和 50.5%。同一浓度处理下, 抗、感病品种发芽率有明显差异。和 ck 比较, 毒素液对根生长的抑制作用在一定浓度范围内并不明显, 当毒素浓度达到一定高度(80 $\mu\text{g/mL}$)时, 根的生长明显受到抑制。

2.2 粗毒素对茄幼苗的致萎作用

茄幼苗经不同浓度粗毒素处理后, 致萎结果见表 2。由表 2 可见, 不同浓度粗毒素处理的茄幼苗, 萎蔫症状出现的时间及轻重表现出一定的差异。毒素浓度大, 萎蔫症状出现的早且严重。

同一浓度毒素处理的茄幼苗, 抗、感病品种萎蔫症状出现的时间及轻重亦有一定的差异。

表 2 不同浓度粗毒素对茄幼苗的致萎作用

品种	毒素浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	3d	4d	5d	6d	7d
北京紫圆	40	+	++	++	++	++
三月青		+	+	++	++	++
北京紫圆	30	+	++	++	++	++
三月青		+	+	++	++	++
北京紫圆	20	—	—	++	++	++
三月青		—	—	++	++	++
北京紫圆	10	—	—	+	+	+
三月青		—	—	—	—	+
北京紫圆	5	—	—	—	—	+
三月青		—	—	—	—	—
北京紫圆	3	—	—	—	—	—
三月青		—	—	—	—	—
北京紫圆	ck	—	—	—	—	—
三月青		—	—	—	—	—

注:“—”无症状;“+”1 级萎蔫(两子叶明显下垂,真叶叶柄轻度下垂);“++”2 级萎蔫(子叶下垂,黄化和失水,真叶下垂,失水和干枯);“+++”3 级萎蔫(全株萎蔫或真叶脱落)。

毒素浓度为 $10\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,感病品种 5 d 出现 1 级萎蔫,而抗病品种 7 d 才出现 1 级萎蔫。毒素浓度为 $40\ \mu\text{g}/\text{mL}$,处理 4 d 时感病品种表现 2 级萎蔫,抗病品种为 1 级萎蔫。

使抗、感品种茄幼苗不产生萎蔫症状的最低毒素浓度也不同。抗病品种为 $5\ \mu\text{g}/\text{mL}$,感病品种为 $3\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3 结论与讨论

培养滤液对茄种子发芽有一定的毒害作用。这种毒害作用在抗、感品种上有明显的差异。因此,用病菌产生的毒素液处理种子,进行品种抗病性的筛选是切实可行的。

粗毒素对茄幼苗有明显的致萎作用。这与人所做的孢子悬液对茄幼苗的致萎结果是一致的。进一步证明了茄黄萎病菌的致萎作用主要是其有害的代谢产物——毒素引起的。随着毒素浓度的增加,幼苗萎蔫症状出现时间早,且严重;同一浓度下,抗、感品种萎蔫症状的出现早晚及严重程度亦有明显的差异。因此,粗毒素对茄幼苗的致萎作用也可作为鉴定和筛选抗病品种的手段。

参考文献:

[1] 张献龙, 姚明镜. 陆地棉枯萎病抗源的体外筛选研究[J]. 棉花学报, 1994, 6(3): 178—183

[2] 章元寿, 王建新, 刘经芬, 等. 大丽轮枝菌毒素的分离、提纯及生物测定[J]. 真菌学报, 1989, 8(2): 140—147.

[3] 甘 莉, 吕金殿. 棉花黄萎病菌毒素的分离提纯及致萎活性测定[J]. 西北农业大学学报, 1991, (3): 49—53.

Effect of Toxicity of *Verticillium Dahliae* on Seeds Germination and Seedling Growth in Eggplant

LIU Zheng-ping, WANG Ruo-jing, ZHANG Fu-rong, TA Na, TIAN Wei-ping

(Inner Mongolia Institute of Agriculture and Animal Husbandry, Huhhot 010618 China)

Abstract: The pathogen of *verticillium dahliae* from eggplant was cultured in medium of Czapek's, the filtrate and raw toxin solution was respectively obtained by filtration and dialysis of the medium solution. The tests of toxicity of the solution were carried out in seeds germination, seedling root growth and the seedling wilting in sensitive and resistant varieties of eggplant. The results showed that the toxicity was exist in a certain degree.

Key words: *Verticillium dahliae*; Toxin; Toxicity