

培养条件对玉米小斑病菌毒素产量的影响*

王立安 齐志广

(河北师范大学生物系, 石家庄 050016)

马春红 阎芝芬 魏建昆

(河北省农林科学院农业物理生理生化研究所, 石家庄 050051)

摘要 采用根尖伸长抑制法, 对比了在不同培养条件下获得的菌丝滤液的致病力大小, 即毒素产量高低。结果表明, 黑暗静止条件下毒素产量最高, 随后依次为光照 12 h-黑暗 12 h-静止条件、光照摇动、光照静止、黑暗摇动。但光照摇动和光照静止条件无显著差异。在有光培养条件下, 摇动和静止差异不显著; 在黑暗条件下, 静止比摇动更有利于毒素产量; 在静止培养条件下, 黑暗比光照更有利于毒素产量; 在摇动条件下, 光照比黑暗更有利于毒素产量。

关键词 玉米小斑病菌 培养条件 菌丝滤液 毒素产量 根尖伸长抑制法

中图分类号 S435.131 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7091(1999)增刊-0092-04

在病理学研究中, 常用致病菌液体培养后的菌丝滤液来提取毒素或进行病理生理生化研究^[1,3~5]。但究竟什么培养条件下玉米小斑病菌毒素产量高, 培养后的菌丝滤液致病力强未见报道。虽然已确认毒素是病原菌产生的一种非酶类、非生长调节剂类的次生物质^[2,3], 但毒素产生的生化机制并不清楚, 本研究在这方面也作了一些探索。

1 材料和方法

1.1 供试材料

玉米小斑病菌和 C₁₀₃ 玉米自交系: 均来自河北省农林科学院。

液体培养基: 采用 Fries 培养基^[3,1]。

玉米催芽生根方法: 先用 0.1% 的升汞消毒 5 min, 清水洗净后浸泡 24 h, 于铺有滤纸、盖有纱布的条件下催芽。长至 1 cm 根的种子做为试材。

1.2 试验方法

接种时采用打孔器($\Phi=1$ cm)从培养皿取菌块, 每培养瓶中接 4 块。接种后分别于光照静止(光静)、黑暗静止(暗静)、光照摇动(光摇)、黑暗摇动(暗摇)、光照 12 h-黑暗 12 h-静止(光暗静)五种条件下培养。培养温度为 25℃, 时间为 20 d。去菌丝后得菌丝滤液。

挑选 10 粒根长为 1 cm 的玉米种子于铺有两层滤纸的培养皿中, 用注射器分别抽取不同培养条件下的菌丝滤液 10 mL, 于恒温 28℃ 条件下培养。测量 24 h、48 h 后根的生长情况。

菌丝滤液的致病力采用抑制发芽玉米根生长的方法, 观察记录处理 24 h、48 h 后根的生

1999-06-04 收稿。

* 河北省自然科学基金资助项目(编号: 396427)

作者简介: 王立安, 男, 1965 年生, 讲师, 理学硕士, 主要从事真菌及真菌病害机理的研究与教学工作。

长情况,并按下面公式计算根的生长抑制率:

根的生长抑制率(%) = $\{(\text{清水对照平均根长} - \text{滤液处理平均根长}) / \text{清水对照平均根长}\} \times 100\%$ 。

对所得结果进行统计学分析。方差分析采用 Microsoft Excel 软件的单因素方差分析完成,分组方式按行。

2 结果与分析

2.1 不同菌丝滤液对根生长状况的影响

用不同培养条件下获得的菌丝滤液处理玉米材料,24 h 后观察玉米根的生长状况及芽鞘的病斑情况,结果如表 1。从表 1 可以看出,暗静、光暗静条件下获得的菌丝滤液对根的生长均有较强的抑制作用,主要表现为根色变为黄褐色、根毛和须根的生长受到抑制、根尖腐烂、根停止生长,并且可以使芽鞘出现病斑。说明菌丝滤液中毒素含量高,致病力强。

表 1 不同培养条件的菌丝滤液对根及芽鞘生长状况的影响

处 理	根的颜色	根毛有无	须根有无	根尖情况	根的活力	芽 鞘
对照	洁白鲜嫩	大量根毛	有长须根	有粘液	旺盛	无病斑、嫩绿色
暗静	深黄褐色	无根毛	无长须根	腐烂褐变	停止生长	有许多病斑
光暗静	黄褐色	无根毛	无长须根	腐烂或顶部膨大	停止生长	可见病斑
光静	黄褐色	无根毛	个别有	顶部膨大	衰老状	可见病斑
光摇	浅黄褐色	很少根毛	有须根	未腐烂不膨大	生长缓慢	偶见病斑
暗摇	浅黄褐色	较少根毛	有须根	未腐烂略膨大	生长缓慢	无病斑、正常

从表 1 中还可以看出,光暗静、光静和暗摇三种条件下获得的菌丝滤液可使根尖膨大,即根尖顶部变粗,这如何解释仍有待进一步研究。

2.2 不同菌丝滤液对根生长的抑制情况

测量记录清水对照和经不同菌丝滤液处理 24 h、48 h 后,玉米根的长度,取平均值,并按上述公式计算每种菌丝滤液对根的生长抑制率。结果列于表 2。

表 2 24 h 后和 48 h 后不同菌丝滤液对玉米根生长的抑制率

滤液种类	24 h 后对玉米根生长的抑制率(%)				48 h 后对玉米根生长的抑制率(%)			
	结果一	结果二	结果三	平均抑制率	结果一	结果二	结果三	平均抑制率
暗静	40.30	43.01	43.28	42.20	64.00	63.05	65.20	64.08
暗光静	33.48	37.92	35.70	35.70	59.55	51.81	58.90	56.75
光摇	31.34	36.15	29.69	32.39	55.72	55.85	58.18	55.42
光静	30.85	27.51	34.00	30.79	58.06	61.73	46.48	56.58
暗摇	24.99	25.20	27.99	26.06	59.17	35.08	52.73	48.99

对表 2 结果进行方差分析和新复极差测验,结果见表 3。从表 3 可以看出:不同培养条件下获得的菌丝滤液处理玉米根尖 24 h 后,玉米根的生长抑制率存在极显著差异。说明不同培养条件下的产毒量存在极显著差异。暗静条件下的毒素产量明显高于其它四种条件,与光摇、光静、暗摇存在极显著差异,这和我们提取玉米小斑病菌时经常采用的黑暗静止培养条件一致。暗光静显著高于光静和暗摇,与光摇处于同一水平。光摇和光静比,毒素产量上并无显著

差异。暗摇抑制率最低,显著低于前四者,说明暗摇条件下毒素产量最低。

对表 2 和表 3 进一步分析显示,在摇动培养条件下,增加光照条件更有利于毒素的产量;而在静止培养条件下,增加光照条件不利于毒素的产量。在光照培养条件下,增加摇动条件与否对毒素的产量影响不大;在黑暗培养条件下,增加摇动条件和黑暗静止培养存在极显著差异。

表 3 不同菌丝滤液对玉米根生长抑制率的新复极差测验

SE = 1.4662(%)

处 理	平 均 数	差 异 显 著 性	
		5 %	1 %
暗 静	42.19667	a	A
暗光静	35.70000	b	AB
光 摇	32.39333	bc	BC
光 静	30.78667	c	BC
暗 摇	26.06000	d	C

对表 2 48 h 后结果进行方差分析后显示,用不同培养条件下获得的菌丝滤液处理玉米根尖 48 h 后,菌丝滤液之间对玉米根尖的生长抑制率并无显著差异。这说明玉米根尖被不同菌丝滤液处理 48 h 后,其所受毒害情况接近同一程度。不能再用以反映不同培养条件下获得的菌丝滤液的毒素含量差异。我们在实验过程中也发现,处理 48 h 之后的玉米根尖几乎全部停止生长,甚至被毒害至死。

静止条件与摇动条件相比,在有光条件下毒素产量差异并不显著,但黑暗条件下差异极其显著,静止要远高于摇动。但也有文献报道摇动有利于毒素的产量^[5]。我们认为毒素的产量多少可能与病原菌孢子的数量大小有关,毒素很可能是在孢子萌发的初期产生的。在静止条件下培养的小斑病菌,由于可在培养液表面生长,20 d 后可在液面上形成一厚厚的菌丝盖,且菌盖表面覆有一层黑色的孢子。而在摇动条件下,由于有利于菌丝的快速生长,不利于孢子的产生,故 20 d 后菌丝球生成,镜检很难发现孢子。这也许就是毒素产量较低的原因。

从上述结果可知毒素的产生还与光照的存在与否有关。在摇动条件下,光照有利于毒素的产量,但在静止条件下,光照不利于毒素的产量,其中原因尚需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 崔洋等. 玉米小斑病菌 C 小种毒素的分离纯化及其植物病理反应. 植物病理学报, 1991, 21(3): 187~191
- 2 章元寿. 植物病原菌毒素的研究现状. 真菌学报, 1991, 10(3): 169~181
- 3 崔洋等. 玉米小斑病菌 C 小种毒素对玉米雄性不育系及其保持系 SOD 及 POD 酶活性的影响. 华北农学报, 1992, 7(1): 25~30
- 4 董金皋等. 真菌毒素生物测定研究概况. 河北农业大学学报, 1993, 16(3): 94~98
- 5 董金皋等. 玉米小斑病菌致病毒素的研究进展. 河北农业大学学报, 1988, 11(2): 123~129

Effects of Culture Condition on Output of Toxin of *Helminthosporium Maydis* of Maize

Wang Li-an Qi Zhiguang

(Department of Biology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016)

Ma Chunhong Yan Zhifen Wei Jiankun

(Agro-physics, Plant Physiology and Biochemistry Institute, Hebei Academy of
Agricultural and Forest Sciences, Shijiazhuang)

Abstract The output of toxin of *Helminthosporium Maydis* of maize was compared by testing the harmful ability of hyphae filtrate from different culture condition with the method of inhibiting the growth of root top. The result indicated the output of toxin in the condition of dark and still was the highest. Then the order from higher to lower was the condition of twelve hours in light then dark and in motionless constantly, the shaking and light, the still and light condition. The lowest yield was in the shaking and dark condition..

Key words: Culture condition; *Helminthosporium Maydis*; Hyphae filtrate; Output of toxin; Method of inhibiting the growth of root top