

尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* Schl.)

在液体(表层)培养时的产毒素条件

安美玉 王福兴 杨建伯

(哈尔滨医科大学大骨节病研究所, 哈尔滨)

尖孢镰刀菌是从大骨节病病区玉蜀黍种粒中分离出最多的一种菌。近年来, Brian, P. W. 等^[1]报道一些镰刀菌属既能产生植物毒素, 又能产生真菌毒素, 二者常呈正相关。我们曾以土壤接菌诱发植株凋萎法筛选出强毒性尖孢镰刀菌 775-3-3 菌株, 并对其毒力作了动物试验, 发现动物骨质出现类似人类大骨节病的病理变化^[2]。为了得到数量多毒力强的毒素, 根据真菌毒素的毒力越强抑制种籽发芽的作用就越大, 发芽率就越低的性质, 本文以抑制白菜籽发芽方法, 测定尖孢镰刀菌在液体(表层)培养时, 不同的培养基和温度对产生毒素能力的影响。

材 料 和 方 法

一、材料

1. 白菜籽: 首先用清水浸湿种籽, 再在肥皂水中用手揉搓, 以后用自来水冲洗, 再在 75% 酒精中浸泡一分钟。再用无菌水冲洗三次, 备用。

2. 供试菌株: 强毒性尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.) 775-3-3 菌株, 是从黑龙江省青山大队玉蜀黍种粒中分离得到。

3. 培养基: 以察氏培养基为基础培养基, 加 1000ml 蒸馏水, 在其中再分别添加不同量的蔗糖、葡萄糖、可溶性淀粉和玉蜀黍胚作为碳

源,组成 A. B. C. D 四种液体培养基:

- A. 可溶性淀粉 25g.
- B. 蔗糖 10g.
- C. 可溶性淀粉 5g,蔗糖 2.5g,葡萄糖 2.5g.
- D. 玉蜀黍胚 35g.

二、方法

试验共分三组。每组都用 A. B. C. D 四种培养基培养。第一组为空白对照(不接种菌株);第二、三组接种尖孢镰刀菌 775-3-3 菌株后,分别在 24—28℃ 和 0—4℃ 下培养 30 天。然后将培养物煮沸(100℃) 30 分钟、过滤,测定滤液对白菜籽萌发的抑制作用。

试验结果

一、白菜籽发芽率

取各组滤液 4ml 注入铺滤纸平皿,每皿播籽 30 粒,每种滤液重复 5 皿。在 10—15℃ 培养 2 天,再于 24—28℃ 培养 3—4 天,第 6 天观察结果(见表 1)。

表 1 白菜籽在不同条件下的平均发芽率(%)

培养基	对 照	24—28℃	0—4℃
A	84.33	69.21	53.19
B	74.96	69.43	56.87
C	66.29	67.86	62.09
D	68.74	33.98	8.85

将上述结果用逆正弦平方根交换法分析(见表 2)。

表 2 白菜籽发芽率的变数分析

变异来源	自由度	方 差	均方差	F 值
温度条件	2	3277.5894	1638.79	38.75
不同培养基	3	4132.5445	1373.51	32.57
交互作用	6	2357.4494	392.91	9.29
误 差	48	2030.0393	42.29	

从表 2 看出温度条件、不同培养基和二者交互作用,其差异均非常显著 ($P < 0.01$)。

用 Duncans', 复距法进一步判断 12 个发芽率之间差异的显著性(按发芽率高低顺序排列)。

84.33	74.96	69.43	69.21	68.74	67.86	66.29	62.09	56.87	53.19	33.98	8.85
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	------

凡在横线范围内的各发芽率无显著差别,横线范围内与横线范围外之间的发芽率均有显著差别 ($P \leq 0.05$)。

从表 1、2 结果看出,① 尖孢镰刀菌在 0—4℃ 比 24—28℃ 时产毒素强,F 值为 38.75,说明两种温度之间的差别非常显著。② 四种培养基对尖孢镰刀菌产毒素的影响表明: 对照组中 A 种培养液白菜籽发芽率最高(84.33%), B. C. D 三种培养液对白菜籽萌发有轻微抑制作用。而在上述四种培养液中接种尖孢镰刀菌 775-3-3 后,抑制作用立即出现不同程度的增强,以加玉蜀黍胚的 D 培养基抑制力最强,尤其在温度 0—4℃ 时发芽率最低,说明该温度和培养基是尖孢镰刀菌毒素产生的最适条件。

小 结

真菌毒素对植物种籽萌发的抑制作用已有很多报道,如黄曲霉毒素抑制水芹籽的萌发^[3,4],梨孢镰刀菌和拟枝孢镰刀菌毒素抑制豌豆、大豆、小麦等种籽萌发^[5]。本试验证明了尖孢镰刀菌毒素对白菜籽萌发的抑制作用。

据报道,尖孢镰刀菌培养物还能引起一些实验动物中毒以致死亡^[6,7],骨质出现类似人类大骨节病病理改变。但该菌毒素的性质还有待进一步研究。

镰刀菌产生毒素与温度有关。如禾谷镰刀菌在 7℃ 产 F-2 毒素^[8]。三线镰刀菌只在 5℃ 产毒素。拟枝孢镰刀菌在低温 6—12℃、雪中或温度激烈变动时产毒素最强^[9]。本试验说明了尖孢镰刀菌在 0—4℃ 较在 24—28℃ 产毒素强。

培养基成分对产生的毒素性质和数量有影响。尖孢镰刀菌在察氏蛋白胨培养基 (P. S. C) 上产粗毒素较多^[10]。本试验显示了以玉蜀黍胚为碳源的 D 培养基产毒素最强,可能与胚部碳、氮物质的利用有关。

参 考 文 献

- [1] Brian, P. W.: Mycotoxins and Other Fungal Related Food Problems, 310—311, 1976.
- [2] 杨建伯、冯国忱、安美玉: 中华医学杂志, 60(5): 312, 1980.
- [3] Schoental, C. R. et al.: Nature, 205: 157, 1965.
- [4] Crisan, E. V.: Applied Microbiology, 25: 342, 1973.
- [5] Purchase, F. H.: Mycotoxins, 229—262, 1973.
- [6] Glen, H. Nelson.: Proceedings of the Symposium on Mycotoxins and Mycotoxines, Presented May, 9: 106, 1972.
- [7] Diener, U. L. et al.: Phytopathology, 66(4): 514—516, 1976.
- [8] Siegfried: Naturwiss., 64(5): 274, 1977.
- [9] Joffe, A. Z.: Microbiol. Toxin, 6: 139—206, 1977.
- [10] Ueno, Y. et al.: Acta Phytomedica Heft, 6: 39, 1978.