

香蕉枯萎病菌4号生理小种产生毒素条件的优化

黄永辉 李瑜婷 范家平 杨媚 周而勋

华南农业大学资源环境学院, 广州 510642

摘要 由尖孢镰孢菌古巴专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)4号生理小种(*Foc* 4)引起的香蕉枯萎病是世界性香蕉毁灭性病害之一,毒素是其重要的致病因子。为了获得香蕉枯萎病菌毒素,采用活体香蕉苗生物测定法观察了不同培养基、培养方式、培养时间、培养温度、Richard培养基初始pH值、摇床转速、接种量和光照等条件对*Foc* 4产生毒素的影响。结果表明:*Foc* 4的最佳产生毒素条件为初始pH值7~9的Richard培养基,接种量为每300 mL培养基5~9个菌丝块,培养温度25~30℃,24 h持续光照,于转速140 r/min摇床上振荡培养9~12 d。

关键词 香蕉枯萎病菌;毒素;产毒条件;生物活性

中图分类号 S 436.67; S 668.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2011)05-0594-05

由尖孢镰孢菌古巴专化型 [*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder et Hansen] 引起的香蕉枯萎病(又称镰刀菌枯萎病、巴拿马病或黄叶病)是世界性的毁灭性病害^[1]。多年来,国内外植物病理学工作者对该病菌的遗传多样性和营养体亲和群、抗病品种的选育、寄主与病原菌互作、抗病生理以及防治措施等方面做了较多研究,并取得了一定进展^[2-3],但该病的发生和危害还没有得到有效的控制,在一定程度上还存在继续蔓延的趋势。尤其是近年来,该病菌4号生理小种引起的香蕉枯萎病在我国华南地区的发生和危害日益严重,给香蕉产业造成了巨大的经济损失,严重威胁到香蕉产业的安全。因此,加强香蕉枯萎病各方面的研究就显得十分迫切和非常必要。

植物病原真菌产生的毒素是一类对寄主植物有毒害作用的代谢产物,是病原真菌与寄主植物相互作用中的重要致病因子。国外早期的研究表明,大多数尖孢镰孢菌(*F. oxysporum*)可产生镰孢菌酸(fusaric acid, FA),FA可导致植物枯萎、叶片褪绿、坏死等症状^[4]。国内对香蕉枯萎病菌毒素的研究相对较迟也较少,特别是鲜见产毒条件研究的详细报道。兀旭辉等^[5]对香蕉枯萎病菌1号小种和4号小种粗毒素的特性进行了初步研究,证明镰孢菌酸是

香蕉枯萎病菌粗毒素中的主要致枯萎物质,但除了镰孢菌酸外,粗毒素中还可能含有其他致病物质。许文耀等^[6-7]对香蕉枯萎病菌毒素的提取和致病活性进行了研究,结果表明用粗毒素处理能引起香蕉假茎细胞产生类似的病变,证实在枯萎病菌对香蕉维管束组织的致病作用中,毒素的毒性起着重要的作用。

笔者在前人研究工作的基础上,对香蕉枯萎病菌在各种条件下产生的毒素致病活性进行了较系统研究,旨在进一步优化其产生毒素的条件,为深入研究该毒素的理化性质以及筛选有效的解毒剂提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌株:尖孢镰孢菌古巴专化型 [*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder et Hansen] 4号生理小种(香蕉枯萎病菌,简称*Foc* 4)菌株,系笔者从广东省广州市番禺香蕉产区表现枯萎病典型症状的香蕉植株假茎上分离获得,由华南农业大学热带亚热带真菌研究室鉴定、保存。

供试香蕉苗:选用的3~4叶龄巴西蕉组培苗(沙床苗),由广东省农业科学院作物研究所提供。

收稿日期: 2011-01-22

基金项目: 国家现代农业(香蕉)产业技术体系建设专项(nycytx-33-06)

黄永辉, 硕士研究生. 研究方向: 植物病原真菌学. E-mail: hyh.ybzx@163.com

通讯作者: 周而勋, 博士, 教授. 研究方向: 植物病原真菌学. E-mail: exzhou@scau.edu.cn

1.2 香蕉枯萎病菌培养滤液的制备

将供试 *Foc* 4 菌株接种至 PDA 平板上, 28 ℃ 下培养 5~7 d 后备用。在装有 300 mL 灭菌 Richard 培养液的 500 mL 三角瓶中, 每瓶分别接入 *Foc* 4 菌落边缘菌丝块(直径 5 mm) 5 块, 轻轻摇晃三角瓶使培养液浸没所有的菌丝块, 置于 28 ℃, 140 r/min 条件下振荡培养 12 d。培养结束后用 4 层灭菌纱布和双层滤纸过滤培养液, 再于 8 000 r/min 离心 15 min 后收集上清液即得培养滤液, 经检测无菌后保存备用。

1.3 香蕉枯萎病菌培养滤液的生物活性测定

采用活体植株浸根法^[8]进行香蕉枯萎病菌培养滤液的生物活性测定。将待测培养滤液加入 50 mL 离心管内, 每管装 40 mL, 放入香蕉苗 3 株, 置于 28 ℃ 恒温培养, 设置不接菌的灭菌 Richard 培养液和灭菌水 2 种对照, 每处理重复 3 次, 逐日观察、记录香蕉苗的萎蔫状况。萎蔫程度分为 0~4 级^[9], 计算萎蔫指数(病情指数)。

$$\text{萎蔫指数(病情指数)} = \frac{\sum(\text{各级萎蔫数} \times \text{各级代表值})}{\text{总株数} \times \text{最高一级代表值}} \times 100$$

1.4 香蕉枯萎病菌毒素产生条件的优化

1) 培养基。分别配制 Richard 培养基(I)、Czapek 培养基(II)、PDB 培养基(III)、PDB+香蕉假茎煎汁培养基(IV)以及香蕉假茎煎汁培养基(V)共 5 种液体培养基, pH 调至 7.0。将 5 种培养基灭菌处理后, 分别在 300 mL 每种培养基接入香蕉枯萎病菌菌丝块(直径 5 mm) 5 块(下同), 每种培养基设 3 个重复, 在 28 ℃ 条件下振荡(140 r/min) 培养 12 d, 培养液经过滤后再离心, 弃去沉淀后用香蕉苗浸根法进行生物测定。设灭菌水和以上各种空白培养基为对照(CK1~CK6), 其中 CK1 为无菌水对照, CK2 为空白 Richard 培养基对照, CK3 为 Czapek 空白培养基对照, CK4 为 PDB 空白培养基对照, CK5 为 PDB+香蕉假茎煎汁培养基对照, CK6 为香蕉假茎煎汁培养基对照。每处理 3 个重复, 每个重复 9 株香蕉苗, 分别于 48、96、144 h 后调查香蕉苗萎蔫程度。最后将各培养基所得菌丝烘干后称质量。

2) 培养方式。以 Richard 为培养基, 接种香蕉枯萎病菌菌丝块, 设置振荡培养(140 r/min)、静置培养及振荡(140 r/min)与静置 12 h 交替培养 3 种培养方式, 另外以灭菌水和空白 Richard 培养基为对照, 于 28 ℃ 下培养 12 d 后, 对各处理所得培养滤

液进行生物活性测定, 并将过滤所得菌丝烘干后称质量, 即为菌丝产量(下同)。

3) 毒素产生的动态变化。以 Richard 为培养基, 接种香蕉枯萎病菌菌丝块, 分别置于 28 ℃ 条件下 140 r/min 振荡培养 3、6、9、12、15、18 d, 设灭菌水和空白 Richard 培养基为对照, 对各处理所得培养滤液进行生物活性测定, 并将过滤所得菌丝烘干后称质量。

4) 温度。以 Richard 为培养基, 分别于 15、20、25、30、35、40 ℃ 共 6 个处理温度下 140 r/min 振荡培养 12 d, 以灭菌水和空白 Richard 培养基为对照, 对各处理所得培养滤液进行生物活性测定, 并将过滤所得菌丝烘干后称质量。

5) pH 值。以 Richard 为培养基, 分别将 pH 值调节为 3.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、11.0 共 7 种处理, 接种香蕉枯萎病菌菌丝块, 以灭菌水和空白 Richard 培养基为对照, 置于 28 ℃ 条件下 140 r/min 振荡培养 12 d, 对各处理所得培养滤液进行生物活性测定, 并将过滤所得菌丝烘干后称质量。

6) 摇床转速。以 Richard 为培养基, 接种香蕉枯萎病菌菌丝块, 分别设置摇床转速为 60、100、140、180、220 r/min 共 5 个处理, 以灭菌水和空白 Richard 培养基为对照, 置于 28 ℃ 条件下振荡培养 12 d, 对各处理所得培养滤液进行生物活性测定, 并将过滤所得菌丝烘干后称质量。

7) 接种量。在 Richard 培养基中分别接入 1、3、5、7、9、11 块大小一致的菌丝块, 以灭菌水和空白 Richard 培养基为对照, 置于 28 ℃ 条件下 140 r/min 振荡培养 12 d, 对各处理所得培养滤液进行生物活性测定, 并将过滤所得菌丝烘干后称质量。

8) 光照条件。以 Richard 为培养基, 设置持续黑暗(I)、持续光照 24 h(II)、光照/黑暗 12 h 交替(III)共 3 个处理, 研究光照条件对病菌产生毒素的影响。以灭菌水和空白 Richard 培养基为对照, 28 ℃ 培养 12 d 后, 对各处理所得培养滤液进行生物活性测定, 并将过滤所得菌丝烘干后称质量。

1.5 数据分析

试验数据采用 SPSS Statistic 17.0 软件进行统计, 并采用 Duncan 氏新复极差法进行分析。

2 结果与分析

2.1 培养基对毒素产生的影响

试验结果表明, *Foc* 4 均能利用 5 种供试培养

基产生毒素,其中利用 Richard 培养基和 Czapek 培养基产生毒素最强(表 1)。这 2 种培养基产生的毒素在各处理时间上与其他处理的香蕉苗病情指数差异显著。另外,产生毒素能力较强的培养基,培养后所得 *Foc 4* 的菌丝产量也较高。5 种供试培养基所得的菌丝产量分别为 2.62、2.50、2.41、2.08、1.85 g,其中最多的是 Richard 培养基(2.62 g),最少的是香蕉假茎煎汁培养基(1.85 g)。

表 1 不同培养基所得培养滤液处理香蕉苗的病情指数¹⁾

Table 1 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different media

培养基 Culture medium	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
I	23.15±0.93 A	48.15±0.93 A	65.74±0.93 A
II	22.22±1.61 A	43.52±0.92 B	62.04±0.93 B
III	14.82±0.93 B	35.19±0.93 C	49.07±0.93 C
IV	12.04±0.93 C	29.63±0.92 D	42.59±1.85 D
V	9.26±0.93 D	24.07±0.93 E	35.18±0.93 E
CK1	0.00±0.00 E	0.00±0.00 G	0.00±0.00 F
CK2	0.00±0.00 E	0.93±0.93 G	0.93±0.93 F
CK3	0.00±0.00 E	2.78±1.61 F	2.78±1.61 F
CK4	0.00±0.00 E	0.00±0.00 G	0.00±0.00 F
CK5	0.00±0.00 E	0.00±0.00 G	0.00±0.00 F
CK6	0.00±0.00 E	0.00±0.00 G	0.00±0.00 F

1)同列数据后的字母相同者,表示在 0.05 水平上差异不显著(下表同)。

Data within the same letters in the column are not significantly different at the level of 5% (the same as following tables).

2.2 培养方式对毒素产生的影响

试验结果表明,在 3 种培养方式中,振荡培养所得培养滤液的毒性最高,在各处理时间上与其他 2 个处理的病情指数差异显著(表 2),同时还可以看出,静置培养方式产生毒素的能力最弱。不同培养方式所得菌丝干重与产毒能力成正比,菌丝产量分别为 2.41、1.80、0.38 g。

表 2 不同培养方式所得培养滤液处理香蕉苗的病情指数

Table 2 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different incubation modes

方式 Modes	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
I	31.49±0.92 A	69.44±1.60 A	92.59±0.92 A
II	23.15±0.93 B	50.93±0.93 B	75.93±0.93 B
III	9.26±0.93 C	22.22±1.39 C	42.59±0.92 C
CK1	0.00±0.00 D	0.00±0.00 D	0.00±0.00 D
CK2	0.00±0.00 D	0.00±0.00 D	0.00±0.00 D

2.3 毒素产生的动态变化

试验结果表明,设定的 6 个时间处理均有一定的产毒能力,其中培养 18 d 所得的培养滤液毒性最弱(表 3)。病菌培养 3 d 后即可产生毒素,培养 6 d

后产毒能力迅速上升,培养 12 d 后的产毒能力达到最高,15 d 后开始下降。各处理香蕉苗的病情指数在培养时间相同时差异显著。不同培养时间处理对菌丝生长的影响较大,3~15 d 呈增长趋势(菌丝产量 0.67~2.62 g),培养 15 d 达到最大值(2.62 g),18 d 后反而有所下降(1.94 g)。

表 3 不同培养时间所得培养滤液处理香蕉苗的病情指数

Table 3 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different incubation times

时间/d Time	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
3	23.15±0.93 B	59.26±0.93 D	78.71±0.93 D
6	25.93±0.93 AB	67.59±0.92 B	89.82±0.93 C
9	25.93±0.93 AB	68.52±0.92 AB	98.15±1.85 A
12	27.78±1.61 A	70.37±0.93 A	98.15±0.93 A
15	24.07±0.93 B	62.04±0.93 C	93.52±0.93 B
18	16.67±1.60 C	50.93±0.93 E	71.29±0.92 E
CK1	0.00±0.00 D	0.00±0.00 F	0.00±0.00 F
CK2	0.00±0.00 D	0.93±0.00 F	1.85±1.60 F

2.4 温度对毒素产生的影响

试验结果表明,温度对 *Foc 4* 产生毒素的影响较大(表 4),其产毒适宜温度为 25~30 °C,这 2 个温度与其余温度处理在相同处理时间上差异显著;低温(15~20 °C)和高温(35~40 °C)都对病菌毒素的产生具有削弱作用。25 °C 时,菌丝产量达到最大值(4.17 g),后随温度升高而呈下降趋势,当温度达到 40 °C 时,菌丝产量达到最小值(0.28 g)。

表 4 不同培养温度所得培养滤液处理香蕉苗的病情指数

Table 4 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different temperatures

温度/°C Temp.	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
15	20.37±0.93 D	40.74±0.93 D	60.18±0.93 E
20	24.07±0.93 BC	44.44±1.60 C	68.52±0.92 D
25	25.93±0.93 AB	62.04±1.85 A	78.71±1.85 B
30	26.85±0.93 A	64.82±0.93 A	87.04±0.93 A
35	22.22±0.00 CD	54.63±0.93 B	73.15±0.93 C
40	14.82±0.93 E	32.41±0.92 E	45.37±0.93 F
CK1	0.00±0.00 F	0.00±0.00 F	0.00±0.00 G
CK2	0.00±0.00 F	0.93±0.93 F	1.85±0.93 G

2.5 pH 值对毒素产生的影响

试验结果表明,在偏酸和偏碱的培养条件下,*Foc 4* 都可以产生毒素,说明 *Foc 4* 产生毒素的适宜 pH 范围较宽,在 pH 值 3~11 时均能适应(表 5)。生测接种 48 h 后,pH 值为 6~9 的各处理香蕉苗在同一时间段的病情指数差异不显著。接种 96 h 和 144 h 后差异显著。各 pH 值处理对菌丝生长影响不大,其产量分别为 2.27、2.89、3.02、3.14、3.96、2.97、3.78 g。

表5 不同pH值培养滤液处理香蕉苗的病情指数

Table 5 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different pH values

pH	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
3	21.29±0.93 D	60.18±0.93 D	71.29±0.93 E
5	23.15±0.93 CD	61.11±1.61 CD	75.00±0.00 D
6	25.00±1.61 ABC	63.89±1.61 C	79.63±0.93 C
7	26.85±0.93 AB	62.04±0.93 CD	84.26±0.93 B
8	27.78±1.61 A	68.52±0.92 AB	85.18±0.93 B
9	25.00±0.00 ABC	71.29±0.93 A	88.89±0.93 A
11	24.07±3.21 BCD	67.59±0.92 B	79.63±0.00 C
CK1	0.00±0.00 E	0.00±0.00 E	0.00±1.61 F
CK2	0.00±0.00 E	0.00±0.00 E	0.93±0.00 F

2.6 摇床转速对毒素产生的影响

试验结果表明,摇床不同转速对 *Foc 4* 产生毒素能力的影响较大(表6),当转速达到 140 r/min 时菌株产生毒素能力最强,所得培养滤液的致病活性最高;转速过快或过慢都不利于菌株产生毒素。当转速达到 140 r/min 时,菌丝产量达到最大(2.68 g)。随着摇床转速的增大,菌丝产量有所下降,180、220 r/min 时菌丝产量分别为 2.53、2.05 g,这可能是由于过快的转速不利于菌丝生长,或者是菌丝自身消溶的结果。

表6 不同转速所得培养滤液处理香蕉苗的病情指数

Table 6 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different rotation speed of shaker

转速/(r/min) Rotation speed	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
60	17.59±0.92 D	31.48±0.92 E	51.85±0.93 C
100	28.71±0.93 B	50.93±0.93 C	74.07±0.93 B
140	32.41±0.92 A	62.96±0.93 A	84.26±0.93 A
180	25.93±0.93 C	59.26±0.93 B	76.85±0.93 B
220	18.52±0.92 D	35.18±0.93 D	50.00±1.61 C
CK1	0.00±0.00 E	0.00±0.00 F	0.00±0.00 D
CK2	0.00±0.00 E	1.85±0.93 F	1.85±0.93 D

2.7 接种量对毒素产生的影响

试验结果表明,接种菌丝数量为 5、7、9 块时,在接种 48 h 和 96 h 后,处理香蕉苗的病情指数差异不显著(表7),且致病活性均高于其他处理;而其他处理与这 3 个处理在不同接种时间上的香蕉苗病情

表7 不同接种量所得培养滤液处理香蕉苗的病情指数

Table 7 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different inoculation amounts

接种块数 No. inoculation	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
1	17.59±0.92 C	37.96±0.93 D	59.59±0.76 E
3	21.29±0.93 B	45.37±0.93 C	69.44±1.60 E
5	25.93±0.93 A	57.57±1.02 A	82.41±0.92 B
7	25.00±0.00 A	55.56±1.60 A	84.26±0.93 B
9	24.07±0.93 A	54.63±0.93 A	87.04±0.93 A
11	20.37±0.93 B	50.93±0.93 B	65.74±0.93 D
CK1	0.00±0.00 D	0.00±0.00 E	0.00±0.00 G
CK2	0.00±0.00 D	1.85±0.93 E	2.78±0.00 F

指数均有显著差异。不同接种量处理的菌丝产量相差不大,其产量分别为 2.84、3.26、2.80、2.71、2.67、2.71 g。

2.8 光照条件对毒素产生的影响

试验结果表明,24 h 持续光照培养条件下,病菌产生毒素能力最强;持续黑暗培养菌株产生毒素能力最弱,且各处理在处理 96 h 后都有显著差异(表8)。24 h 持续光照培养的菌丝产量最大(3.12 g),其次是光/暗交替培养(2.39 g),24 h 持续黑暗培养的菌丝产量最少(1.36 g)。

表8 不同光照条件所得培养滤液处理香蕉苗的病情指数

Table 8 The disease index of banana plantlets treated with culture filtrates from different illumination conditions

光照 Illumination	处理时间/h Treatment time		
	48	96	144
I	22.22±1.61 A	56.65±1.09 A	83.33±1.60 A
II	18.52±0.92 B	49.07±1.85 B	65.74±0.93 B
III	15.74±0.93 B	42.59±1.85 C	60.35±0.76 C
CK1	0.00±0.00 C	0.00±0.00 D	0.00±0.00 D
CK2	0.00±0.00 C	0.00±0.00 D	0.00±0.00 D

3 讨论

笔者在前人研究工作的基础上^[10-13],参照立枯丝核菌毒素、大豆灰斑病菌毒素、玉米黄斑病菌毒素、玉米小斑病菌毒素、甘薯青枯病菌毒素等产生的条件,从培养基种类、培养时间、培养温度、培养液 pH 值、光照条件、振荡条件、摇床转速和接种量等多方面较系统地探讨了影响 *Foc 4* 毒素产生的因子,从而确定了 *Foc 4* 的最佳产毒条件:初始 pH 值 7~9 的 Richard 培养基,接种量为 300 mL 培养基 5~9 个菌丝块,培养温度 25~30 °C,24 h 持续光照,于转速 140 r/min 摇床上振荡培养 9~12 d。在该最佳产毒体系中所获得的毒素的致病(萎蔫)活性最高。本研究结果为香蕉枯萎病菌毒素的深入研究奠定了基础。

从前人的研究结果中可以看到,不同真菌的最优产毒条件是不相同的^[14-15]。本研究中得出 *Foc 4* 的最佳产毒温度在 25~30 °C,而武爱波等^[16]认为 20 °C 是镰孢菌产毒的最适温度,这可能与所使用的镰孢菌的种类和专化型不同有关,因为本研究使用的尖孢镰孢菌古巴专化型 4 号生理小种(香蕉枯萎病菌)是典型的热带种类,其最佳的毒素产生温度与其最适的致病温度是高度吻合的^[1]。另外,毒素的产量和毒性还与培养过程中菌丝的生长量有关,其最佳的生长条件并不完全等同于最佳的毒素产生条

件^[17]。因此,香蕉枯萎病菌的生长条件与产生毒素的关系还有待进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] PLOETZ R C, PEGG K G. Fusarium wilt [A]//JONES D R. Diseases of banana, abaca and enset. Wallingford: CABI Publishing, 2000: 143-159.
- [2] MATSUMOTO K, BARBOSA M L, SOUZA L A C, et al. Race 1 fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid[J]. Euphytica, 1995, 84: 67-71.
- [3] 唐倩菲, 杨媚, 周而勋, 等. 香蕉受枯萎病菌感染后酚类物质含量的变化[J]. 华南农业大学学报, 2006, 27(3): 55-57.
- [4] BACON C W, PORTER J K, NORRED W P, et al. Production of fusaric acid by *Fusarium* species[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(11): 4039-4043.
- [5] 兀旭辉, 许文耀, 林成辉. 香蕉枯萎病菌毒素特性的初步研究[G]//彭友良. 中国植物病理学会 2004 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 39-44.
- [6] 许文耀, 兀旭辉, 林成辉. 香蕉枯萎病菌粗毒素的毒性及其模型[J]. 热带作物学报, 2004, 25(4): 25-29.
- [7] 许文耀, 兀旭辉, 杨静惠, 等. 香蕉假茎细胞对枯萎病菌不同小种及其粗毒素的病理反应[J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 425-430.
- [8] 张广民, 王智发, 刘延荣, 等. 烟草低头黑病菌培养滤液对烟草毒性及作用特性的研究[J]. 山东农业大学学报, 1995, 26(2): 131-136.
- [9] 李瑜婷. 香蕉枯萎病菌毒素及其解毒剂的研究[D]. 广州: 华南农业大学资源环境学院, 2009: 1-60.
- [10] 徐敬友, 张华东, 张红, 等. 立枯丝核菌毒素的产生与致病力的关系[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2004, 25(2): 61-64.
- [11] 刘亚光, 杨庆凯, 李海英, 等. 大豆灰斑病菌毒素的产生条件研究[J]. 菌物系统, 2000, 19(1): 137-138.
- [12] 杨军玉, 藏少先, 刘淑香. 玉米黄斑病菌产毒条件及毒素稳定性研究[J]. 玉米科学, 2000, 8(4): 82-84.
- [13] 卢同, 种藏文, 李本金. 甘薯青枯病菌毒素产生条件的研究[J]. 植物病理学报, 1999, 29(4): 339-344.
- [14] 李金花, 柴兆祥, 高彩菊. 粉红聚端孢体外产毒条件的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2004, 39(6): 675-678.
- [15] WIEDNER C, VISSER P M, FASTNER J, et al. Effects of light on the microcystin content of microcystis strain PCC 7806 [J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69: 1475-1481.
- [16] 武爱波, 赵纯森, 瞿波, 等. 镰刀菌毒素及其分子生物学研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(5): 516-521.
- [17] 吴和岩, 苏瑾, 施玮. 铜绿微囊藻的生长及产毒条件研究[J]. 环境与健康杂志, 2006, 23(4): 304-307.

Optimization of the toxin-producing conditions for *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 4

HUANG Yong-hui LI Yu-ting FAN Jia-ping YANG Mei ZHOU Er-xun

College of Natural Resources and Environment,
South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract Banana fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 4 (*Foc* 4), is one of the most destructive diseases of banana worldwide. To obtain the toxin of *Foc* 4 effectively and provide the foundation for further research, the culture filtrates of *Foc* 4 obtained from different culture media, in different incubation modes, with different incubation time, incubation temperatures, initial pH values of Richard medium, rotation speeds of shaker, and inoculation amounts, under different illumination conditions were tested for their bioactivities to banana plantlets *in vivo* by using root-dipping method. An optimized system for toxin production of *Foc* 4 was established, in which the optimal condition for *Foc* 4 to produce toxin was obtained when it was cultured in Richard medium with an initial pH 7-9 and 5 mycelial plugs per 300 mL, in an incubation temperatures of 25-30 °C under continuous illumination for 24 h in a shaker at 140 r/min for 9-12 days.

Key words *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*; toxin; toxin-producing condition; bioactivity