

利用甲基磺酸乙酯和枯萎病菌毒素诱变筛选香蕉抗毒素突变体

杨 媚, 舒灿伟, 陈健仪, 聂剑平, 周而勋*

(华南农业大学资源环境学院, 广州 510642)

摘 要: 以化学诱变剂甲基磺酸乙酯 (EMS) 和香蕉枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) 4 号生理小种的粗毒素为诱变剂, 以香蕉愈伤组织和分化芽为筛选材料, 通过多步筛选法, 优化了筛选体系, 并筛选出了抗香蕉枯萎病菌毒素的突变体。以体积百分比浓度为 0.5% 的 EMS 分别处理香蕉愈伤组织和分化芽 40 min, 获得“半致死剂量”效应, 对存活的香蕉愈伤组织和分化芽在依次递增的粗毒素浓度 (5.0%→10.0%→12.5%) 胁迫下进行定向筛选, 获得了抗香蕉枯萎病菌毒素的愈伤组织块和分化芽, 从抗病分化芽突变体获得了再生植株。对再生植株抗毒素的性能进行鉴定, 其病情指数 (24.72) 显著低于对照植株 (96.11), 抗毒素效果达到 74.28%。

关键词: 香蕉; 香蕉枯萎病菌; 毒素; 甲基磺酸乙酯 (EMS); 抗病突变体; 离体筛选

中图分类号: S 668.1; S 436.67 **文献标识码:** A **编号:** 0513-353X (2012) 08-1465-06

Screening of Mutants Resistant to the Toxin Produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Using Ethyl Methane Sulfonate and Toxin Mutagenesis Techniques

YANG Mei, SHU Can-wei, CHEN Jian-yi, NIE Jian-ping, and ZHOU Er-xun*

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

Abstract: The calli and differentiation buds of banana were treated with chemical mutagen ethyl methane sulfonate (EMS) and the crude toxin produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 (*Foc* 4), the causal agent of banana fusarium wilt, via a multi-step screen method. As a result, an optimized screen system was established and the resistant mutants were obtained. The optimized screen system as follows, Firstly, the calli and differentiation buds of banana were treated with 0.5% (v/v) of EMS for 40 minutes which resulted in the effect of “semi-lethal dose”; Then, the survived calli and differentiation buds of banana were screened directionally under the stress of successively increasing concentrations (5.0%→10.0%→12.5%) of *Foc* 4 crude toxin; And finally, toxin-resistant calli and toxin-resistant differentiation buds were successfully obtained by using this multi-step screen method. The regenerated banana plantlets derived from toxin-resistant mutants of differentiation buds were tested for their resistance to *Foc* 4 toxin, the results showed that the disease index (24.72) of mutant plantlets was significantly lower than that (96.11) of control plantlets, and the effect of toxin-resistance reached 74.28%.

收稿日期: 2012-03-01; 修回日期: 2012-07-17

基金项目: 国家现代农业 (香蕉) 产业技术体系建设专项 (nycyt-33-06, CARS-32-05)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: exzhou@scau.edu.cn; Tel: 020-38297832)

Key words: banana; *Musa* spp.; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; toxin; ethyl methane sulfonate (EMS); resistant mutants; *in vitro* screening

香蕉枯萎病 [*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder et Hansen] 是香蕉上的一种土传性的世界毁灭性病害。20 世纪 50 年代, 该病在中、南美洲的巴拿马、哥斯达黎加、洪都拉斯、哥伦比亚等地发生严重, 毁灭了大片香蕉园 (Jones, 1999)。香蕉枯萎病现广泛分布于亚洲、非洲、澳大利亚、南太平洋及热带美洲的各香蕉产区, 给种植国带来了巨大的经济损失, 是最严重和具毁灭性的病害之一 (Jones, 1999; 谢梅琼 等, 2011)。近年来, 香蕉枯萎病已成为中国香蕉产业发展的最大障碍之一 (谢梅琼 等, 2011)。对于香蕉枯萎病这种土传性的维管束病害的防治, 目前尚无理想的药剂。选育抗病品种被认为是防治该病最经济有效的措施之一 (左存武 等, 2010)。利用组织培养技术结合化学诱变技术、细胞工程技术来提高香蕉种质的抗病水平, 是近年来生物技术在香蕉抗病育种上的发展与应用 (Bhagwat & Duncan, 1998; Matsumoto et al., 1999; 徐春香 等, 2008)。Hwang 等 (2004) 利用组织培养技术, 从香蕉组培苗的变异植株中选育出了抗香蕉枯萎病的新品种。本研究在前期研究工作的基础上 (敖世恩 等, 2006a, 2006b; 唐倩菲 等, 2006a, 2006b; 黄永辉 等, 2011; 杨媚 等, 2012a, 2012b), 以化学诱变剂甲基磺酸乙酯 (ethyl methane sulfonate, EMS) 和香蕉枯萎病菌 4 号生理小种的粗毒素为双诱导剂, 在离体条件下对香蕉组织进行定向诱变, 旨在筛选出抗香蕉枯萎病的突变体, 创制香蕉抗病种质新资源, 以保护香蕉产业的健康发展。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验于 2010—2011 年在华南农业大学热带亚热带真菌研究室的实验室和温室内进行。供试香蕉品种为巴西蕉。5 或 6 叶龄香蕉组培苗由广东省农业科学院果树研究所惠赠。以通过间接和直接器官发生途径分别获得的愈伤组织和分化芽作为筛选材料。供试菌株为香蕉枯萎病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) 4 号生理小种菌株, 分离自香蕉罹病植株, 由华南农业大学热带亚热带真菌研究室鉴定和保存。病原菌粗毒素的制备参考黄永辉等 (2011) 的方法。

1.2 抗病突变体的离体筛选

1.2.1 甲基磺酸乙酯 (EMS) 诱变处理

用灭菌蒸馏水配制体积百分比浓度分别为 0.25%、0.50% 和 0.75% 的甲基磺酸乙酯 (EMS) (上海劲马生物科技有限公司, 高纯, 99%) 溶液, 备用。

采取浸渍法 (黄俊生 等, 1995) 进行诱变处理。将已继代增殖的愈伤组织切成边长 3 mm 左右的小方块, 与分化芽一起浸泡在上述 3 种不同浓度的 EMS 溶液中, 持续时间分别为 20、40 和 60 min, 以灭菌水代替 EMS 作对照 (浓度记为 0)。处理结束后, 香蕉材料用灭菌水冲洗 4~5 次, 再用灭菌滤纸吸干多余水分, 然后分别接种到继代培养基 (姚明镜 等, 1994) 上进行预培养。每瓶接种 4 块愈伤组织或 4 个分化芽, 9 瓶为一个处理, 每处理 3 次重复。培养 14 d 后, 观察、记录愈伤组织和分化芽的存活情况, 计算存活率。凡能在继代培养基上继续生长或在变褐组织上长出新鲜幼嫩组织的计为存活。以 3 个重复的平均值为观察结果。存活率 (%) = (存活数/接种数) × 100。

通过存活率计算, 确定 EMS 的半致死剂量 (存活率 50%), 以半致死剂量的 EMS 处理愈伤组织和分化芽, 然后将存活的愈伤组织和分化芽用于下一步的抗毒素突变体的筛选。

1.2.2 抗毒素突变体的筛选

含毒素继代培养基的制备：在继代培养基（姚明镜 等，1994）中加入粗毒素溶液，使粗毒素溶液的含 量分别为 5.0%、10.0%和 12.5%，高温高压灭菌后备用，以不加粗毒素液的继代培养基为对照（浓度记为 0）。采用逐步筛选法，即以逐步增加培养基中粗毒素浓度的方法筛选突变体。选取经半致死剂量 EMS 诱变处理并进行过预培养的健康、大小一致的愈伤组织和分化芽，分步培养在上述含粗毒素和不含粗毒素液（对照，浓度为 0）的继代培养基上（赵蕾 等，2001），成批地进行“筛选→继代→筛选”，3 次循环往复。每瓶接种 4 块愈伤组织或 4 个分化芽，9 瓶为一个处理，每处理 3 次重复。每一次的存活组织进入下一轮更高浓度的粗毒素的筛选，最后挑选出存活的愈伤组织和分化芽。经过扩繁后供植株再生和抗毒素鉴定试验之用。

1.3 植株再生与抗毒素鉴定

将经 EMS 和粗毒素双重筛选存活下来的愈伤组织和分化芽进行植株再生，以未经处理的愈伤组织和分化芽为对照，每瓶接种 4 块愈伤组织或 4 个分化芽，9 瓶为一个处理，每处理 3 次重复。

采用幼苗浸渍法（王家和 等，2002）进行抗毒素鉴定。选取经过 EMS 和粗毒素筛选的、大小一致的再生幼苗（4~5 叶龄），移栽到盛有 20 mL 12.5% 粗毒素溶液的 50 mL 烧杯中，以未经 EMS 和粗毒素筛选的再生幼苗为对照。每个处理设置 10 个烧杯，每个烧杯种 3 株苗，3 次重复。设置以灭菌水代替毒素的空白对照。然后置于温度（28±1）℃，光照强度 2 000 lx，12 h/12 h 光暗周期的培养箱中培养。在处理后的第 7 天观察、记录发病情况并计算病情指数和抗毒素效果（敖世恩 等，2006a）。以 3 次重复的平均值为观察结果。

参考 Brake（1995）的报道，观察记录叶片和整个植株的变色情况，病害程度分为 5 级。0 级：无黄化叶片，植株外观健康；1 级：植株下部叶片可见轻微黄化；2 级：植株大部分下部叶片表现黄化，新叶开始出现变色症状；3 级：植株大部分或全部叶片表现大范围黄化症状；4 级：植株完全枯萎，甚至死亡。病情指数 = Σ （各级病株数 × 代表数值）/（总株数 × 最高病级代表值）× 100；抗毒素效率（%）=（对照再生植株病指数 - 突变体再生植病情指数）/对照再生植株病情指数 × 100。

2 结果与分析

2.1 EMS 诱变剂量和时间的确定

从表 1 可看出，3 种浓度（0.25%、0.50% 和 0.75%）的 EMS 溶液对香蕉愈伤组织均有伤害作用，而且随着浓度的加大和处理时间的延长，愈伤组织的存活率均逐渐降低。在接近 50% 的存活率时，当处理时间在 20 min 时，香蕉愈伤组织能够忍耐 EMS 的浓度为 0.75%；当处理时间延长至 40 min 时，愈伤组织对 EMS 的忍耐浓度降低到 0.50%；当处理时间延长至 60 min 时，无论是低浓度还是高浓度的 EMS，都能导致愈伤组织的存活率的显著降低。

从表 1 还可看出，分化芽存活率的变化趋势与愈伤组织的大致相同。本研究选择出适合于香蕉突变体离体筛选的半致死剂量 EMS 的

表 1 EMS 诱变处理的香蕉愈伤组织和分化芽的存活率

Table 1 Survival rates of banana calli and differentiation buds treated with EMS

| 处理时间/ min Treating time | EMS/ % | 存活率/ % Survival rate | |
|-------------------------------|-----------|----------------------|----------------------------|
| | | 愈伤组织 Callus | 分化芽 Differentiation bud |
| 20 | 0 | 86.11 ± 1.61 a | 98.15 ± 0.93 a |
| | 0.25 | 73.15 ± 0.93 b | 83.33 ± 1.60 b |
| | 0.50 | 61.11 ± 1.61 d | 70.37 ± 0.93 d |
| | 0.75 | 49.07 ± 0.93 e | 55.56 ± 1.60 e |
| 40 | 0 | 87.96 ± 0.93 a | 99.07 ± 0.93 a |
| | 0.25 | 66.67 ± 1.60 c | 75.93 ± 0.93 c |
| | 0.50 | 49.07 ± 1.85 e | 51.85 ± 0.93 f |
| | 0.75 | 28.71 ± 0.93 g | 37.96 ± 0.93 h |
| 60 | 0 | 87.04 ± 0.93 a | 96.29 ± 0.93 a |
| | 0.25 | 60.18 ± 0.93 d | 67.59 ± 0.92 d |
| | 0.50 | 36.11 ± 1.60 f | 43.51 ± 0.93 g |
| | 0.75 | 18.52 ± 0.92 h | 32.41 ± 0.92 i |

P = 0.05。

诱变体系是：0.50% EMS 处理 40 min，愈伤组织和分化芽的存活率为 50%左右。将存活的愈伤组织和分化芽用于下一步的抗毒素筛选试验。

2.2 抗毒素突变体的筛选

通过逐步增加粗毒素浓度（5.0%→10.0%→12.5%）的方法，使经过 EMS 筛选的愈伤组织和分化芽在含粗毒素培养基上继代增殖，进行突变体的离体筛选，最后分别获得了在 12.5%粗毒素浓度下稳定生长的愈伤组织 94 块和分化芽 103 个。这些抗毒素的愈伤组织和分化芽即为抗枯萎病突变体。经过扩繁后供植株再生和抗毒素鉴定。

2.3 再生植株的获得

分别以上述经过 EMS 和粗毒素筛选出的愈伤组织和分化芽（突变体）以及未经 EMS 和粗毒素处理过的愈伤组织和分化芽（对照）进行植株再生试验。结果表明，上述对照的和突变体的愈伤组织经分化培养，大部分愈伤组织都表现为褐变，只有少量绿点组织存活，但这些绿点组织也随着再生时间的延长而慢慢死亡，因此，对照的和突变体的愈伤组织未能获得再生植株。而对照的和突变体的分化芽经过培养都获得了再生植株，其中对照获得 106 株再生苗，再生率为 98.15%，突变体获得 98 株再生苗，再生率为 90.74%。当再生植株生长至 4~5 片叶时，用于下一步的抗毒素鉴定。

2.4 再生植株的抗毒素鉴定

采用幼苗浸渍法对再生植株进行抗毒素鉴定，第 7 天时的发病情况见表 2。以灭菌水为空白对照的上述两类再生植株都不发病；经毒素处理后的突变体再生植株的病情指数比对照再生植株的病情指数显著下降，抗病效果显著提高。具体表现为，对照再生植株表现严重萎蔫症状，病级均达 3 级以上，大部分为 4 级，平均病情指数达 96.11；而突变体再生植株的症状不明显，大部分植株的病级在 1 级以下，只有少数为 2 级，平均病情指数只有 24.72，与对照差异极显著，抗毒素效果达到 74.28%。这些结果显示，本研究中通过 EMS 和粗毒素分步筛选法，已经筛选到能够抗香蕉枯萎病菌 4 号生理小种粗毒素的再生植株。

表 2 香蕉再生植株的抗毒素鉴定

Table 2 Identification of regenerated banana plantlet resistance to toxin

| 再生植株 Regenerated plantlet | 处理 Treatment | 总株数 Total plantlet | 各病级株数 Plantlet number of each disease grade | | | | | 病情指数 Disease index | 抗毒素效果/% Resistant effect |
|---------------------------------|------------------|--------------------------|--|-------|------|------|-------|-----------------------|-----------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | | |
| 对照再生植株 Control plantlet | 灭菌水 | 30 | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| | Sterilized water | | | | | | | | |
| 突变体再生植株 Mutant plantlet | 毒素 Toxin | 30 | 0 | 0 | 0 | 4.67 | 25.33 | 96.11 ± 0.28 A | - |
| | 灭菌水 | 30 | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| | Sterilized water | | | | | | | | |
| | 毒素 Toxin | 30 | 4.33 | 21.67 | 4.00 | 0 | 0 | 24.72 ± 0.74 B | 74.28 |

P = 0.01.

3 讨论

香蕉枯萎病这种土传性的维管束病害被誉为香蕉“癌症”，虽然通过栽培和生防措施有一定防治效果（姬华伟 等，2012；李文英 等，2012），但最经济有效的措施是选育和利用抗病品种。由于香蕉主栽品种均为三倍体，具高度不育性和单性结实等特点，难于通过传统杂交育种方式获得品质好、抗性强的优良品种（徐春香 等，2008），采用诱变育种是一条值得探索的新途径。本研究中以 EMS 处理香蕉愈伤组织和分化芽，在获得“半致死剂量”效应的基础上，再在不同浓度的香蕉

枯萎病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) 4 号生理小种粗毒素的胁迫下进行多步定向选择, 成功地筛选到了抗毒素的香蕉愈伤组织和分化芽, 并从抗毒素分化芽突变体中获得了再生植株。这些抗毒素的再生植株对病菌的抗性和在田间的抗性程度如何有待进一步研究。

对于突变体的离体筛选, 如果使用单一的化学诱变剂, 由于突变方向难以掌握, 具有很大的随机性(安学丽 等, 2003)。因此, 利用化学诱变剂结合病原菌毒素的选择压力来进行突变体的筛选, 可实现一定程度的定向诱变(Jain, 2001)。本研究中结果取得了较好的诱变效果。

自从 Carlson (1973) 以病原菌的致病毒素为筛选压力, 建立抗毒素筛选体系以来, 这一技术体系目前已成为抗病突变体筛选最常用的体系之一。但 Yoder (1980) 认为病原菌毒素在致病过程中是否起关键作用是保证利用毒素筛选出具有抗病性的突变体的必要条件之一。已有的研究表明, 香蕉枯萎病菌的粗毒素对香蕉具有明显的致萎作用, 是香蕉枯萎病的重要致病因子(许文耀 等, 2004; 杨媚 等, 2012a, 2012b)。因而本研究利用毒素筛选的抗病突变体具有较大的实用价值。

Hartman (1984) 认为, 在病原菌毒素的选择压力下, 植物易产生某些生理适应性变异体, 一旦选择压力消失, 这些变异体又会恢复到原来的对毒素敏感状态。而且毒素处理后只是少数细胞发生突变, 难以获得稳定遗传的抗病突变体。为了克服这些不足, 在抗病突变体的筛选中采用多步定向筛选法可能更有效(赵蕾 等, 2001)。本研究中采用逐步增加香蕉枯萎病菌粗毒素浓度的体系, 成功地筛选到了抗香蕉枯萎病菌毒素的突变体, 证实了香蕉抗枯萎病突变体的筛选可采用多步定向法。

References

- An Xue-li, Cai Yi-lin, Wang Jiu-guang, Wang Guo-qiang, Sun Hai-yan. 2003. Chemical mutagen and its application in plant. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 17 (3): 239 - 242. (in Chinese)
- 安学丽, 蔡一林, 王久光, 王国强, 孙海燕. 2003. 化学诱变及其在农作物育种上应用. *核农学报*, 17 (3): 239 - 242.
- Ao Shi-en, Yang Mei, Zhou Er-xun, Tang Qian-fei, Pan Ru-qian. 2006a. Screening of rice somatic mutants resistant to rice sheath blight *in vitro*. *Journal of South China Agricultural University*, 27 (1): 47 - 50. (in Chinese)
- 敖世恩, 杨 媚, 周而勋, 唐倩菲, 潘汝谦. 2006a. 水稻抗纹枯病突变体的离体筛选. *华南农业大学学报*, 27 (1): 47 - 50.
- Ao Shi-en, Yang Mei, Zhou Er-xun, Tang Qian-fei, Pan Ru-qian. 2006b. Physiological and biochemical characterization of *in vitro* screened rice somatic mutants resistant to sheath blight. *Journal of South China Agricultural University*, 27 (2): 39 - 41. (in Chinese)
- 敖世恩, 杨 媚, 周而勋, 唐倩菲, 潘汝谦. 2006b. 离体筛选的水稻抗纹枯病突变体的生理生化特性分析. *华南农业大学学报*, 27 (2): 39 - 41.
- Bhagwat B, Duncan E J. 1998. Mutation breeding of banana cv. Highgate (*Musa* spp., AAA group) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using chemical mutagens. *Scientia Horticulturae*, 73 (1): 11 - 22.
- Brake V M. 1995. Fusarium wilt of Cavendish banana. *Australian Journal of Agricultural Research*, 46 (3): 673 - 685.
- Carlson P S. 1973. Methionine sulfoximine-resistant mutants of tobacco. *Science*, 180: 1366 - 1368.
- Hartman C L. 1984. Selection of alfalfa (*Medicago sativa*) cell lines and regeneration resistant to the toxin produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*. *Plant Science Letters*, 34: 183 - 194.
- Huang Jun-sheng, Kong De-jian, Huang Feng. 1995. Callus induction and antimetabolite mutant selection for pineapple. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 16 (Supplement): 1 - 6. (in Chinese)
- 黄俊生, 孔德饴, 黄 峰. 1995. EMS 诱变菠萝愈伤组织选择抗性突变体的研究. *热带作物学报*, 16 (增刊): 1 - 6.
- Huang Yong-hui, Li Yu-ting, Fan Jia-ping, Yang Mei, Zhou Er-xun. 2011. The optimization of the toxin-producing conditions for *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 30 (5): 594 - 598. (in Chinese)
- 黄永辉, 李瑜婷, 范家平, 杨 媚, 周而勋. 2011. 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种产毒条件的优化. *华中农业大学学报*, 30 (5): 594 - 598.
- Hwang S C, Ko W H. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to fusarium wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant Disease*, 88: 580 - 588.
- Jain S M. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica*, 118: 153 - 166.
- Ji Hua-wei, Zheng Qing-song, Dong Xian, Zhou Jin-yan, Shen Qi-rong, Guo Shi-wei. 2012. Effects and mechanism of copper and zinc elements

- on controlling fusarium-wilt disease of banana. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (6): 1064 – 1072. (in Chinese)
- 姬华伟, 郑青松, 董 鲜, 周金燕, 沈其荣, 郭世伟. 2012. 铜、锌元素对香蕉枯萎病的防治效果与机理. *园艺学报*, 39 (6): 1064 – 1072.
- Jones D R. 1999. Diseases of banana, abacó and enset. London: CABI Publishing: 143 – 159.
- Li Wen-ying, Peng Zhi-ping, Yang Shao-hai, Yu Jun-hong, Huang Ji-chuan, Wu Xue-na, Yang Lin-xiang. 2012. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and controlling fusarium-wilt disease of banana seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (2): 234 – 242. (in Chinese)
- 李文英, 彭智平, 杨少海, 于俊红, 黄继川, 吴雪娜, 杨林香. 2012. 植物根际促生菌对香蕉幼苗生长及抗枯萎病效应研究. *园艺学报*, 39 (2): 234 – 242.
- Matsumoto K, Barbosa M L, Souza L A C, Teixeira J B. 1999. *In vitro* selection for fusarium wilt resistance in banana. II. Resistance to culture filtrate of race 1 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Fruits*, 54 (3): 151 – 157.
- Tang Qian-fei, Yang Mei, Zhou Er-xun, Ao Shi-en, Jiang Zi-de, Chen Hou-bin. 2006a. Endogenous hormone change in banana infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Journal of South China Agricultural University*, 27 (2): 42 – 44. (in Chinese)
- 唐倩菲, 杨 媚, 周而勋, 敖世恩, 姜子德, 陈厚彬. 2006a. 香蕉受枯萎病菌感染后内源激素含量的变化. *华南农业大学学报*, 27 (2): 42 – 44.
- Tang Qian-fei, Yang Mei, Zhou Er-xun, Ao Shi-en, Jiang Zi-de, Chen Hou-bin. 2006b. Changes of phenol compound contents in banana infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Journal of South China Agricultural University*, 27 (3): 55 – 57. (in Chinese)
- 唐倩菲, 杨 媚, 周而勋, 敖世恩, 姜子德, 陈厚彬. 2006b. 香蕉受枯萎病菌感染后酚类物质含量的变化. *华南农业大学学报*, 27 (3): 55 – 57.
- Wang Jia-he, Wang Chong-de, Lu Ning. 2003. Toxic effects of *Fusarium oxysporum* extracts on broad bean seed germination and seedling growth. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 17 (4): 395 – 399. (in Chinese)
- 王家和, 王崇德, 陆 宁. 2002. 蚕豆枯萎病菌毒素液对蚕豆种子发芽及幼苗生长的影响. *云南农业大学学报*, 17 (4): 395 – 399.
- Xie Mei-qiong, Yang Mei, Yang Ying-qing, Jiang Zi-de, Zhou Er-xun. 2011. The risk analysis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, the causal agent of banana fusarium wilt. *Journal of Fruit Science*, 28 (2): 284 – 289. (in Chinese)
- 谢梅琼, 杨 媚, 杨迎青, 姜子德, 周而勋. 2011. 香蕉枯萎病菌的风险性分析. *果树学报*, 28 (2): 284 – 289.
- Xu Chun-xiang, Chen Jia-yue, Pan Xiao, Wang Ze-huai, Chen Hou-bin. 2008. Study on *in vitro* screening technique for mutants resistant to fusarium wilt through embryogenic cell suspension of banana (*Musa* spp. AAA group). *Journal of Fruit Science*, 25 (5): 686 – 690. (in Chinese)
- 徐春香, 陈佳越, 潘 晓, 王泽槐, 陈厚彬. 2008. 利用胚性细胞悬浮系研究香蕉枯萎病抗性离体筛选技术. *果树学报*, 25 (5): 686 – 690.
- Xu Wen-yao, Wu Xu-hui, Yang Jing-hui, Yang Kun. 2004. The pathogenic reaction of banana pseudostem cells to different races of vascular wilt fungus and their crude toxins. *Acta Phytopathologica Sinica*, 34 (5): 425 – 430. (in Chinese)
- 许文耀, 兀旭辉, 杨静惠, 杨 琨. 2004. 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. *植物病理学报*, 34 (5): 425 – 430.
- Yang Mei, Huang Yong-hui, Shu Can-wei, Li Yu-ting, Zhou Er-xun. 2012a. Studies on the characteristics of crude toxin produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (3): 545 – 551. (in Chinese)
- 杨 媚, 黄永辉, 舒灿伟, 李瑜婷, 周而勋. 2012a. 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种粗毒素特性的研究. *园艺学报*, 39 (3): 545 – 551.
- Yang Mei, Zeng Rui, Li Yu-ting, Huang Yong-hui, Zhou Er-xun. 2012b. Screening of antidotes to toxin produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 and their effects on defensive enzyme activities of banana. *Journal of Fruit Science*, 29 (1): 99 – 104. (in Chinese)
- 杨 媚, 曾 蕊, 李瑜婷, 黄永辉, 周而勋. 2012b. 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种毒素解毒剂的筛选及对香蕉防御酶活性的影响. *果树学报*, 29 (1): 99 – 104.
- Yao Ming-jing, Zhang Xian-long, Liu Jin-lan, Sun Ji-zhong. 1994. Effect of *Verticillium dahliae* culture filtrate on seedling, seed germination and culture of cotton *in vitro*. *Acta Gossypii Sinica*, 6 (3): 184 – 188. (in Chinese)
- 姚明镜, 张献龙, 刘金兰, 孙济中. 1994. 棉花黄萎病菌培养滤液对棉幼苗、种子发芽及离体培养物的毒害作用. *棉花学报*, 6 (3): 184 – 188.
- Yoder O C. 1980. Toxin in pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, 18: 103 – 129.
- Zhao Lei, Liang Yuan-cun, Zhang Tian-yu. 2001. Research progress in screening of plant disease resistance mutants using pathogenic toxin. *Biotechnology*, 11 (3): 41 – 44. (in Chinese)
- 赵 蕾, 梁元存, 张天宇. 2001. 利用致病毒素筛选植物抗病突变体的研究进展. *生物技术*, 11 (3): 41 – 44.
- Zuo Cun-wu, Sun Qing-ming, Huang Bing-zhi, Li Chun-yu, Yi Gan-jun. 2010. Screening method for resistance to fusarium wilt of banana basing on green fluorescent protein tagged pathogen and root exudates. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (5): 713 – 720. (in Chinese)
- 左存武, 孙清明, 黄秉智, 李春雨, 易干军. 2010. 利用根系分泌物与绿色荧光蛋白标记的病原菌互作关系鉴定香蕉对枯萎病的抗性. *园艺学报*, 37 (5): 713 – 720.