

99-101
19
紫外线对非致病尖孢镰刀菌的诱变作用宗兆锋¹ 王汝贤¹ 杨之为¹ 张晓燕² 韩长录³

(1 西北农业大学植保系, 陕西杨陵 712100) (2 福州动植物检疫局, 福州 350013)

(3 深圳笋岗动植物检疫局, 深圳 518020)

A

摘 要 以紫外线($\lambda=230\sim265\text{ nm}$)照射非致病尖孢镰刀菌316菌系,随着照射时间的增加,分生孢子的存活数逐渐减少,照射时间与存活菌株对农抗120和速克灵的变异频率间没有一定的相关性,对农抗120抗性增加的菌株仍保持316定殖西瓜幼苗导管的能力,对瓜苗的促生作用以及非致病性,在药板上用紫外线重复照射存活菌株后,获得的菌株对两种农药的变异频率均有提高,对农抗120的抗性有所下降,对速克灵的抗性显著提高。

关键词 紫外线诱变,生物防治,非致病尖孢镰刀菌,抗药性

中图分类号 S476

人工诱变改良微生物的菌种特性,已在食品及工业微生物中广泛应用^[1]。定向诱变生防菌,提高植物病害生物防治效果的研究仅见在木霉菌的使用方面^[2]。本研究试图通过紫外线处理具有一定生防作用的316菌系^[3],进一步选择既能抗某些常用内吸杀菌剂,又有促生作用而不失去生防活性的菌株。为探索菌药结合使用防治西瓜枯萎病提供依据。

1 材料与方法

将非致病尖孢镰刀菌316菌系经 C_{mex} 培养液培养,制成孢子悬液(10^3 mL^{-1}),取0.2 mL涂于PDA平板,置于15 W紫外灯($\lambda=230\sim265\text{ nm}$)下32 cm处照射一定时间,随即暗培养,3 d后记录存活菌落数,挑取单菌落保存。

从致死率在90%以上的皿中随机挑取10个菌株液培,取0.2 mL孢子悬液涂于含药PDA平板立即用紫外线照射,暗培养3 d后于每种农药平皿中随机挑取10个存活菌株,如此重复照射2次,药板中农药浓度逐次递增,最后挑取单菌落保存。将获得的各菌株在含药平皿中培养,定期测量菌落直径,分别与316菌系进行显著性分析,计算出存活菌株对农药的变异频率。

选出第一次照射后的菌,以孢子悬液浸根接种西瓜(郑杂5号)幼苗,测定定殖导管的能力^[4]。将初选菌株在麦粒沙上扩大培养,以土重2%的菌量接种土壤后播种,测定对瓜苗生长的影响。初选菌株经小麦培养液振荡培养9 d,取其滤液加入85%浓硫酸,静置后在930分光光度计上测得各菌株的读数,与标准曲线相比得赤霉素含量值。

2 结果与分析

2.1 紫外线的致死作用

经不同时间紫外线处理,316菌系分生孢子的致死率随着照射时间的延长而逐渐增

加(表1),存在着明显的剂量效应关系。分析两次照射发现,孢子对紫外线的敏感性也随着照射前孢子在平皿中静置时间的延长而增加,时间越长,孢子越趋萌动,越易被致死。

表1 紫外线对316菌系的致死率

%

处理时间(s)	0	30	60	90	120	150	180
试验 I	0	51.8	79.7	91.3	96.8	100	100
试验 II	0	—	72.5	87.4	91.6	99.3	100

2.2 紫外线的诱变效应

从表2可以看出,紫外线处理1次后,菌株对农药的变异频率与处理时间之间没有一定的相关性,在紫外线照射120 s 的处理下菌株的变异频率最高。在药板上增加处理次数后,其变异频率均有提高,在不同农药之间表现出不同的增幅。

表2 紫外线对316菌系的诱变效应

照射次数	处理时间(s)	测定菌株(个)	农抗120		速克灵	
			变异菌株(个)	变异频率(%)	变异菌株(个)	变异菌株(%)
1	60	7	4	57.1	4	57.1
	90	28	17	60.7	7	25.0
	120	8	6	75.0	5	62.5
	150	9	2	22.2	2	22.2
4	90	32	22	68.8	—	—
		30	—	—	23	76.7

表3表明,经紫外线处理后,菌株对不同农药的抗性变异不同。处理1次后,菌株对农抗120的抗性增加,对速克灵的抗性则降低。在药板上增加处理次数后显著提高了菌株对速克灵的抗性,降低了对农抗120的抗性。

表3 紫外线照射后菌株变异趋势

农药种类	处理次数	变异菌株数	抗性增加		敏感性增加	
			菌株数	%	菌株数	%
农抗120	1	29	17	58.6	12	41.4
	4	22	10	45.5	12	54.5
速克灵	1	18	2	11.1	16	88.9
	4	23	14	60.9	9	39.1

2.3 抗药菌株对瓜苗的影响

测定了11个菌株定殖瓜苗导管的能力^[6],与316相比,除3125的定殖能力显著增强外,其余均有所下降,下降幅度在10.2%~75.8%,但未发现定殖能力完全丧失的菌株。

选出3株抗农抗120菌株进行温室盆栽试验,结果表明,供试菌对瓜苗均有促进作用。B3227,B3229,B3121,316和对照的平均株高分别为27.6,17.2,16.3,23.3和15.3 cm;最大叶面积分别是44.3,38.6,33.6,42.9和30.6 cm²;赤霉素含量分别是12.5,8.0,7.0和10.0 μg·g⁻¹。可见,变异菌株对瓜苗的促生效应与其分泌的赤霉素量呈正相关。

3 讨 论

用低剂量紫外线处理具有生防作用的316菌系,选出抗药性增强的菌株接种西瓜幼

苗,均未表现致病性,仍保持原菌系定殖导管的能力和瓜苗的促生作用。说明316菌系经紫外线诱变后,变异菌株仍保持316最本质的特性。

紫外线诱变是一种不可控的诱变方法,具有双向性。本研究利用药板定向诱变,显著增加了菌株对速克灵的抗性,提高了变异率,该项设计是一种较为理想的诱变筛选方法。紫外线照射改变了原菌系的遗传物质^[2,5],推测变异菌株的基本特性可以长期得到保持。

供试菌株分泌赤霉素的量与其对瓜苗的促生作用呈正相关。这为筛选具有促生作用的菌株提供了又一定量指标。进一步说明用紫外线诱变改造生防菌是一条可行的途径。

致谢:本试验承李君彦教授、付志东教授和王国栋副教授指导,谨此致谢。

参 考 文 献

- 1 中国科学院微生物研究所. 微生物诱变育种. 北京: 科学出版社, 1973
- 2 Papavizas G C, Lewis J A, Abd-El Moity. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology*, 1982, 72(2): 126~132
- 3 李君彦, 张硕成. 提前接种非致病尖孢镰刀菌防治西瓜枯萎病试验. *生物防治通报*, 1990, 6(4): 165~169
- 4 宗兆锋, 钮绪艳, 李君彦等. 西瓜枯萎病病原菌的筛选研究. *西北农业大学学报*, 1995, 23(2): 60~64
- 5 Postma J, Lutikholt A J G. Benomyl-resistant *Fusarium* isolates in ecological studies on the biological control of fusarium wilt in carnation. *Neth J Pl Path*, 1993, 99(2): 175~188

Mutagenic Effect of UV Light on Nonpathogenic *Fusarium oxysporum*

Zong Zhaofeng¹ Wang Ruxian¹ Yang Zhiwei¹

Zhang Xiaoyan² Han Changlu³

(1 Department of Plant Protection, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

(2 Fuzhou Animal and Plant Quarantine Bureau, Fuzhou, 350013)

(3 Shenzhen Animal and Plant Quarantine Bureau, Shenzhen, 518020)

Abstract The strain 316 of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* were irradiated on PDA plate with UV light (230~265 nm) at 32 cm distance. The survival number of conidia decreased as time of irradiation increased. There was no correlativity between the lengths of treated time with UV light and the mutation frequency of survival strain to Agricultural Antibiotic 120 (AA 120) and Sumilex. Nonpathogenic AA 120-resistant mutants still remained the colonization in the hypocotylar of watermelon seedlings and promoted the growth of watermelon plant in the greenhouse experiment. The fungicides-resistant mutants were repeatedly irradiated on PDA containing AA 120 or sumilex with UV light, the mutation frequency to the fungicides were increased. There was a slight decrease in the resistance of mutants to AA 120, while a significant increase in the resistance to sumilex.

Key words UV mutagenesis, biological control, nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, fungicides resistance