

UV - B 辐射增强对水稻稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*) 生长和产孢的影响

赵 颖^{1,2}, 祖艳群¹, 李 元¹

(1. 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201; 2. 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明 650201)

摘要: 采用人工紫外灯照射方法, 研究了在 UV - B 辐射增强条件下和 UV - B 不同剂量作用下, 水稻稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*) 菌丝的生长速率、菌落直径、菌落形态、菌丝形态及产孢量。结果表明, UV - B 辐射增强可延缓稻瘟病菌的生长, 导致菌丝生长速率和产孢量均显著下降 ($P < 0.05$)。同一 UV - B 辐射强度下, 不同的辐射时间对稻瘟病菌菌丝生长速率和菌落直径的影响没有显著性差异 ($P > 0.05$)。在 2.5 和 5.0 $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ 强度下, 不同的辐射剂量对病菌产孢量的影响有显著性差异 ($P < 0.05$)。在 UV - B 辐射增强条件下, 病菌采取与植物类似的形态学变化来抵御 UV - B 辐射增强的伤害, 经 UV - B 辐射处理后的病菌菌落颜色加深, 菌丝分布更加致密。

关键词: UV - B 辐射; 稻瘟病菌; 菌丝; 生长速度; 产孢量

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1672-2043(2010)增刊-0001-05

Effects of Enhanced UV - B Radiation on Growth and Sporulation Quantity of Blast Isolate *Magnaporthe grisea*

ZHAO Ying^{1,2}, ZU Yan-qun¹, LI Yuan¹

(1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The effects of UV - B radiation on the grown character and the spore quantity of blast isolate *Magnaporthe grisea* were studied. Results showed that supplemental UV - B radiation resulted in growth slowly, decreased in hyphal growth rate and sporulation quantity of *Magnaporthe grisea* ($P < 0.05$) significantly. Under the same intensity of UV - B radiation, difference in radiation time on hyphal growth rate and colony diameter of *Magnaporthe grisea* was not observed ($P > 0.05$). Under 2.5 and 5.0 $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$, with increasing the dosage of UV - B radiation, sporulation quantity markedly decreased and was lower than that of CK significantly. Under enhanced UV - B radiation, *Magnaporthe grisea* had morphological adaption to alleviate UV - B injury. UV - B radiation resulted in darker colony color and more dense distribution of hyphal.

Keywords: UV - B radiation; *Magnaporthe grisea*; hypha; rate of growth; sporulation quantity

随着工业的发展, 氯氟烃和石化燃料在工业中的应用越来越广泛, 大气平流层中的臭氧遭到了前所未有的破坏, 平流层臭氧的耗损降低了它对 UV - B 辐射 (Ultraviolet - B, 280 ~ 320 nm) 的吸收作用, 从而导致到达地球表面的 UV - B 辐射明显增强^[1]。UV - B 辐射增加, 能够产生许多生物学效应, 如促进种子发

芽、植物生长等, 不仅对植物、动物和人体健康产生伤害, 也对微生物的生长和生理代谢活动产生明显的影响^[2-3]。

稻瘟病是严重影响水稻生产的重要病害, 病害流行地区或发病田块, 一般减产 10% ~ 20%, 严重时可达 40% ~ 50%, 甚至酿成颗粒无收, 造成极大的经济损失。目前国内外关于紫外线对植物病原真菌的生物学效应研究已有少许报道^[4-7], 但是对于 UV - B 辐射对稻瘟病菌影响的研究还未见报道。本试验利用人工紫外灯照射, 对 UV - B 辐照后稻瘟病菌生长

收稿日期: 2009 - 09 - 09

基金项目: 国家博士点基金 (20060676002)

作者简介: 赵 颖 (1981—), 女, 硕士研究生, 主要从事紫外辐射生态学方面的研究。E-mail: zhaoying5825077@163.com

通讯作者: 李 元 E-mail: liyuan03@yahoo.com.cn

特性的变化进行研究,为稻瘟病的防治和水稻的生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

水稻稻瘟病菌由云南农业大学植物病理重点实验室提供。紫外灯管为 ZWS30W,陕西宝鸡灯泡厂生产。

1.2 稻瘟病菌的培养

将菌株用番茄燕麦培养基(燕麦 30 g,琼脂 15 ~ 20 g,番茄汁 150 mL)纯化培养 7 d(恒温 25 °C),用打孔器切取直径为 6 mm 的菌丝块,将若干菌丝块移至另外的番茄燕麦培养基上,25 °C 恒温培养箱中培养。

1.3 UV-B 辐射处理

模拟 UV-B 辐射使用 30 W UV-B 灯管(280 ~ 315 nm),每个灯管用 0.13 mm 醋酸纤维素膜包被,以去除小于 290 nm 的短波辐射。各辐射处理用紫外辐射仪(北京师范大学光电仪器厂生产)测量(以培养皿盖顶部计),紫外光生物有效辐射强度(UV-B_{BE})由通用生物有效辐射公式 Ciddwell^[9]计算。设 4 个辐射水平,分别为 0、2.5、5.0、7.5 kJ·m⁻²;5 个辐射处理时间 0、5、8、10、15 min。根据培养皿与灯管之间的高度调节 UV-B 辐射强度。每处理 3 个重复。

1.4 UV-B 辐射对稻瘟病菌菌丝体的影响

1.4.1 菌落直径测定和菌落形态观察

用直径为 6 mm 的无菌打孔器从番茄燕麦培养基边缘打取菌块接入培养基中央,置于 25 °C 恒温培养箱中培养 6 d 后开始记录菌落直径、菌落形态,共记录 3 次,每日 1 次,使用十字交叉法测量菌落直径。3 d 后将敞开盖的培养皿置于 UV-B 灯管正下方,在不同的 UV-B 辐射强度下对稻瘟病菌分别辐射。辐射前,预开紫外灯 30 min,使其稳定。辐射处理后,用黑布包裹培养皿防止光复活,置于 25 °C 恒温培养箱中黑暗培养 72 h 后开始测量菌落直径,每日 1 次,共 5 次,并记录菌落形态。

1.4.2 菌丝形态的观察

挑取辐照后 1 d 的菌株的菌丝于干净的载玻片上,加蒸馏水用盖玻片盖紧,于 40 倍显微镜下观察菌丝形态,量取菌丝宽度。

1.5 产孢量测定

用直径为 6 mm 灭菌打孔器分别从经 UV-B 辐射处理过的菌落上打取菌碟接入番茄燕麦培养基中央。将培养基置 25 °C 恒温培养箱中培养 8 d 后,用无菌盖玻片轻刮菌落表面,用 2 mL 无菌水使孢子悬

浮,通过 2 层无菌纱布过滤,定容 5 mL。用血球计数板计算不同处理的病菌产孢情况。每处理 3 个重复。

1.6 统计分析

用 DPS2000 软件进行显著性差异分析($P < 0.05$),用 Excel (Office 2003)软件作图。

2 结果与分析

2.1 UV-B 辐射对稻瘟病菌菌丝生长的影响

2.1.1 菌落直径的变化

由图 1 可见,UV-B 辐射显著抑制了稻瘟病菌的生长($P < 0.05$)。同一 UV-B 辐射强度下,不同的辐射时间对菌丝生长没有显著影响。UV-B 辐射对菌落的作用并不与照射剂量成正比,不同强度间的差异不显著。

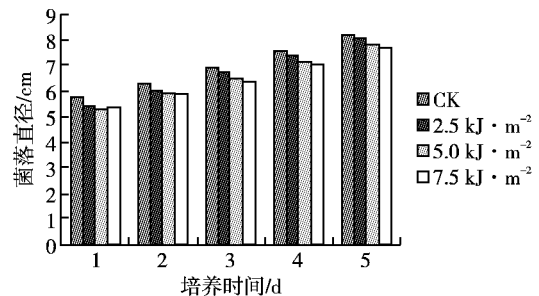


图 1 UV-B 辐射对菌落直径的影响

Figure 1 The effects of UV-B on colony diameter of *Magnaporthe grisea*

2.1.2 菌丝生长速率的变化

菌丝的生长速率在辐照后第 1 d 显著下降($P < 0.05$),UV-B 辐射显著抑制病菌菌丝的生长(表 1)。同一 UV-B 辐射强度下,不同的辐射时间对菌丝生长没有显著影响。随处理后培养时间的延长,病菌菌丝的生长速率表现出先升高后下降的变化趋势。辐照后第 2 d,菌落开始缓慢生长,UV-B 处理过的菌丝的生长速率达到或超过了辐照前水平。在 UV-B 辐照后第 3 d,2.5 kJ·m⁻² UV-B 强度处理过的病菌菌丝生长速率显著高于 5.0 kJ·m⁻² 处理、7.5 kJ·m⁻² 处理与对照($P < 0.05$)。

2.2 稻瘟病菌菌落的变化

UV-B 辐射增强会使菌落的形态发生变化(图 2)。经 UV-B 辐射增强处理的稻瘟病菌菌丝分布明显变得致密、紧凑,气生菌丝较辐照前稀疏;黑色素增多,菌落颜色加深,逐渐变为黑褐色,辐照前的菌落和辐照后的菌落间出现明显的同心圆界限;菌落颜色由内至外为灰色→绿色→黑褐色。

表1 UV-B辐射对稻瘟病菌菌丝生长速率的影响

Table 1 Effects of UV-B radiation on rate of hyphal growth rate(%) of *Magnaporthe grisea*

UV-B 辐射 UV-B radiation		UV-B 辐射后菌丝的生长速率/% Rate of hyphal growth after UV-B radiation		
辐射强度/ $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ Radiation intensity	辐照时间/min Radiation Time	1 d	2 d	3 d
0	—	15.47a	10.46b	9.46b
2.5	5	8.19b	12.57ab	11.17b
	8	12.08ab	11.72ab	10.98b
	10	7.96b	10.65b	14.64a
	15	9.70b	12.95a	13.27a
5.0	5	10.72b	11.63a	10.41a
	8	9.01bc	13.41a	9.52a
	10	7.51c	11.40a	11.93a
	15	8.65bc	13.47a	9.24a
7.5	5	8.51b	12.65b	10.68a
	8	6.74b	12.02b	9.59a
	10	7.33b	14.90a	9.73a
	15	7.64b	11.58bc	10.43a

注:同一列不同字母代表显著差异性水平 ($P < 0.05$), $n = 3$ 。Different letters in the same column indicate statistically significant difference at $P < 0.05$ with Duncan, $n = 3$ 。

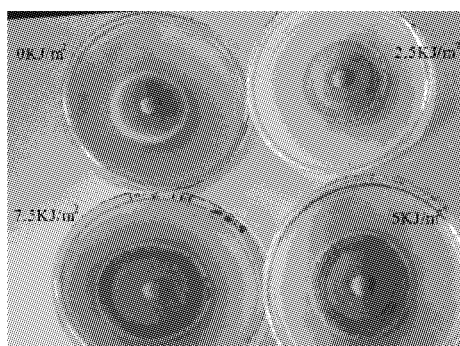


图2 不同UV-B处理后的菌落形态变化

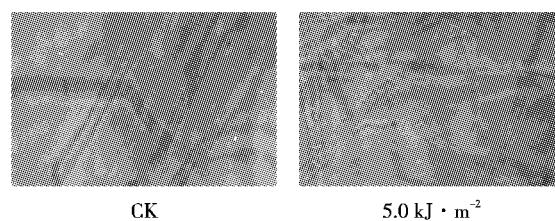
Figure 2 Changes of colony morphology after different UV-B intensities

2.3 稻瘟病菌菌丝的变化

紫外线照射会使菌丝的形态发生变化(图3)。未经UV-B辐射处理的稻瘟病菌菌丝无分隔,其宽为 $2.75 \sim 3.68 \mu\text{m}$,平均为 $3.31 \mu\text{m}$,为珊瑚状,细长而平滑,菌丝均匀透明。经UV-B辐射处理过的菌丝分枝增多,菌丝体呈结节状,粗细不一,且菌丝内增加颗粒状沉淀物质。菌丝宽处达 $6.21 \mu\text{m}$,窄处仅为 $1.43 \mu\text{m}$ 。

2.4 稻瘟病菌产孢量的变化

UV-B辐射处理导致稻瘟病菌的产孢量显著下

图3 UV-B辐射增强条件下链格孢菌菌丝形态变化($\times 40$)Figure 3 Changes of mycelial morphology of *Magnaporthe grisea* after UV-B radiation

降($P < 0.05$)(表2)。在2.5和 $5.0 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ 强度下,不同辐照时间对病菌的产孢量有显著影响($P < 0.05$)。在 $7.5 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ 强度下,不同辐照时间对病菌的产孢量的影响没有2.5和 $5.0 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ 的明显。由此可见,UV-B辐射对稻瘟病菌产孢量的影响不仅与辐射强度有关,还与辐照时间有关。

3 结论和讨论

本研究结果表明,增强UV-B辐射对稻瘟病菌的生长和产孢能力都有不同程度的影响。UV-B辐射增强显著地抑制了稻瘟病菌的生长,导致病菌菌落及菌丝形态显著改变。在辐照后第1d菌丝生长速

表 2 UV - B 辐射对稻瘟病菌产孢量的影响
Table 2 Effects of UV - B radiation
on the quantity of spore of *Magnaporthe grisea*

UV - B 辐射强度 Radiation intensity/ kJ · m ⁻²	UV - B 辐照时间 Radiation time/ min	产孢量 Spore quantity	差异显著性 Significant difference P < 0.05
0	0	2.0 × 10 ⁷	a
2.5	10	1.75 × 10 ⁷	b
	20	1.1 × 10 ⁷	c
	30	7.5 × 10 ⁶	d
	40	5.0 × 10 ⁶	e
5.0	10	4.5 × 10 ⁶	ef
	20	4.0 × 10 ⁶	ef
	30	3.25 × 10 ⁶	f
	40	1.5 × 10 ⁶	g
7.5	10	1.0 × 10 ⁶	g
	20	1.0 × 10 ⁵	g
	30	3.0 × 10 ³	g
	40	2.5 × 10 ³	g

率显著下降,但 UV - B 辐射对稻瘟病菌生长的抑制作用并不与辐射剂量成正比。UV - B 辐射增强处理导致稻瘟病菌的产孢量显著下降,且抑制作用不仅与强度有关,还与辐照时间有关。这与对番茄叶霉病菌 *Fulvia fulva* 的研究结果是一致的^[8]。

在 UV - B 辐射增强条件下,病菌采取与植物类似的形态学变化来抵御 UV - B 辐射增强的伤害。病菌通过改变菌落面积与菌丝密度,促进菌丝内颗粒状沉积物的分泌,增加菌丝干重,以此来调节 UV - B 辐射对其的穿透力^[9-10]。在逆境中,黑色素化的细胞壁层是病菌与环境间的一道屏障。病菌通过在体内合成大量黑色素来有效地吸收紫外光,将光能量转移到其分子结构中,使细胞免受紫外光的伤害^[11]。UV 辐射主要通过促进黑色素合成基因的表达与转录,来调控病菌体内黑色素的合成^[12]。经 UV - B 辐射增强处理的稻瘟病菌菌丝明显变得致密、紧凑;气生菌丝减少;菌落颜色加深,变为黑褐色;菌落变薄。在对大豆疫霉菌和炭疽病菌等病菌的研究中也得到了同样的结论^[13]。

紫外线是一种电磁波,其照射生物体后可引起生物体内遗传物质的突变,使生物个体生长发育、物质转换、能量代谢和遗传信息发生改变,从而影响生物

体的生长。稻瘟病菌经 UV - B 辐射后其生长受到抑制,是否因经紫外线照射后引起菌丝体遗传物质发生突变,进一步抑制其呼吸强度,降低多种酶的活性,抑制其新陈代谢的速度,从而抑制菌丝体的生长,这些均有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业科学出版社,1996.
FANG Zhong - da. Method for plant pathology [M]. Beijing: Agricultural Science Press, 1966.

[2] 蒋高明. 当前植物生理生态研究的几个热点问题[J]. 植物生态学报, 2001, 25(5): 514 - 519.
JIANG Gao - ming. Review on some hot topics towards the researches in the field of plant physioecology [J]. *Acta Phytoecology Sinica*, 2001, 25(5): 514 - 519.

[3] Kathleen J, Duguay, John N, et al. Direct and indirect effects of enhanced UV - B radiation on the decomposing and competitive abilities of saprobic fungi[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 14: 157 - 164.

[4] Sundin G W, Jacobs J L. Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field - grown peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Microbial Ecology*, 1999, 38: 27 - 38.

[5] Wu B M, Subbarao K V, Van Bruggen A H C. Factors affecting the survival of *Bremia lactucae* sporangia deposited on lettuce leaves [J]. *Phytopathological*, 1997, 87(6): 628 - 633.

[6] Fourtouni A, Manetas Y, Christias C. Effects of UV - B radiation on growth, pigmentation, and spore production in the phytopathogenic fungus *Alternaria solani* [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1999, 76(12): 2093 - 2099.

[7] 袁红旭, 商鸿生. 紫外线(UV)照射禾顶囊壳生物学效应的研究[J]. 核农学报, 1999, 13(2): 94 - 99.
YUAN Hong - xu, SHANG Hong - sheng. The biological effects of ultraviolet ray (UV) radiation on *Gaeumannomyces graminis* [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 1999, 13(2): 94 - 99.

[8] 王美琴, 王海荣, 刘慧平, 等. 番茄叶霉病菌的生物学特性研究[J]. 山西农业大学学报, 2003, 23(4): 303 - 307.
WANG Mei - qin, WANG Hai - rong, LIU Hui - ping, et al. Bionomics of *Fulvia fulva* (Cooke) ciferri [J]. *Shanxi Agric Univ*, 2003, 23(4): 303 - 307.

[9] 吴芳芳, 郑有飞, 胡正华, 等. UV - B 辐射增强对苹果炭疽菌生长特性及其过氧化氢酶活性的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(1): 158 - 162.
WU Fang - fang, ZHENG You - fei, HU Zheng - hua, et al. Effects of enhancing ultraviolet - B radiation on grown character and catalase in *Colletitrichum gloeosporioides* [J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(1): 158 - 162.

[10] Ruanl, Yu Z, Fang B, et al. Melanin pigment formation and increased UV resistance in *Bacillus thuringiensis* following high temperature induction [J]. *Syst Appl Microbiol*, 2004, 27(3): 286 - 289.

[11] Raviv M, Antignus Y. UV Radiation effects on pathogens and insect

- pests of greenhouse - grown crops [J]. *Photochem Photobiol*, 2004, 13(4): 708 - 717.
- [12] Junichi K. Studies on photomorphogenesis in a phytopathogenic fungus induced by near - ultraviolet radiation [J]. *Plant Pathol*, 2004, 70(6): 388.
- [13] 于红梅, 左豫虎, 马丽丽. 紫外线对大豆疫霉菌生物学性状的影响 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2006, 18(6): 20 - 24.
- YU Hong - mei, ZUO Yu - hu, MA Li - li. Effects of UV radiation on biological characters of *Phytophthora sojae* [J]. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2006, 18(6): 20 - 24.
- [14] 井金学, 商鸿生, 李振岐. 紫外线诱导小麦条锈菌生物学效应的研究 [J]. 植物病理学报, 1993, 23(4): 229 - 304
- JING Jin - xue, SHANG Hong - sheng, LI Zhen - qi. The biological effects of ultraviolet ray radiation on wheat stripe rust (*Puccinia striiformis* west) [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1994, 23(4): 229 - 304.
- [15] 商鸿生, 井金学, 李振岐. 紫外线诱导小麦条锈病毒性突变的研
究 [J]. 植物病理学报, 1994, 24(4): 347 - 351.
- SHANG Hong - sheng, JING Jin - xue, LI Zhen - qi. Mutations induced ultraviolet radiation affecting virulence in *Puccinia striiformis* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1994, 24(4): 347 - 351
- [16] 侯集瑞, 李 玉, 图力古尔, 等. 紫外线诱导对药用真菌菌丝体生长的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2002, 24(6): 20 - 24.
- HOU Ji - rui, LI Yu, Tolgor, et al. Effects of UV rays on Hypha growth of *Morchella esculenta*, *Trichotoma matsutake* and *Collybia velutipes* [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2002, 24(6): 20 - 24.
- [17] 李 鹏, 穆娟微, 马德全, 等. 水稻褐变穗病原菌生物学特性的研究 [J]. 现代化农业, 2006(5): 1 - 2.
- [18] Gunasekera T S, Paul N D, Ayres P G. The effects of ultraviolet - B (UV - B: 290 ~ 320 nm) radiation on blister blight disease of tea (*Camellia sinensis*) [J]. *Plant Pathology*, 1997, 46(2): 179 - 185.
- [19] 张 钰, 傅俊范, 周如军, 等. 红花黑斑病病原菌生物学特性研究 [J]. 江苏农业科学, 2008(2): 105 - 107.