

培养基中添加多菌灵分离抗麦类赤霉病菌的放线菌

匡开源 薛惠龙 朱宗源 郑福琴 刘俊士

(上海市农业科学院植物保护研究所, 上海)

赤霉病严重影响麦类的产量和人畜健康。苯并咪唑类化合物多菌灵(以下简称 BCM)对该病有较好的防治效果, 但此药品的产量远远不能满足需要。因此分离抗麦类赤霉病菌的放线菌菌株, 是一项有意义的工作。

我们在筛选抗麦类赤霉病菌菌株时, 发现在分离培养基中添加一定量 BCM, 有助于提高

分离效果。此类工作尚未见报道。

材 料 和 方 法

一、菌株和培养基

1. 放线菌: 从四川、浙江、江苏等地采集 111 份土壤样品, 用弹土法将土壤接种在不同

的琼脂培养基上。

用 50% 可湿性 BCM 粉剂（上海红卫农药厂出品）配成含有各种浓度（折算成纯品）的淀粉铵或黄豆饼粉浸汁琼脂培养基；以不添加 BCM 的培养基作对照。放线菌用黄豆饼粉液体振荡培养。分离放线菌方法和培养基见文献^[1]。

2. 病原菌：从本院试验农场小麦病穗中分离得到麦类赤霉菌（*Gibberella zeae*）。

斜面培养用 P. D. A 琼脂培养基，孢子悬浮液用 5% 绿豆汁液体振荡培养。

二、用麦穗测定放线菌抗赤霉病的有效率

1. 麦穗离体测定：剪取无病扬花的麦穗（保留上部剑叶）浸蘸放线菌培养液。对照浸蘸清水，另设 0.1% BCM 为药剂防治对照。晾干后，喷雾接种赤霉菌孢子悬浮液，然后将麦株浸在 25℃ 左右水池内，保湿 2 天，4—7 天后检查发病情况。由每个处理的病情指数计算防治效果，求出抗赤霉菌有效放线菌株和分离有效率。

2. 麦穗田间测定：选取扬花始期的小麦田块（用病麦粒接种致病菌），每区喷洒放线菌培养液 2 次（相隔 7 天），用清水和 BCM 为对照。15 天后检查结果，同样求出抗赤霉菌有效放线菌株数量和分离有效率。

试 验 结 果

一、添加 BCM 对分离放线菌的影响

在添加 0.3—6.5 毫克/毫升 7 种不同浓度的 BCM 淀粉铵琼脂培养基上，用 10 份土样 210 个培养皿进行分离，以不添加 BCM 的为对照，按常规方法挑出菌落，观察各处理中放线菌菌落的出现数目，计算菌落被抑制率，结果见表 1。

表 1 说明，当培养皿中 BCM 浓度为 6.5 毫克/毫升时，土样中微生物的生长都被抑制。当浓度 5.0 毫克/毫升以上时，较明显观察到抑制黄色、粉红孢、绿色、灰灰类群的放线菌和某些

表 1 BCM 对分离放线菌的影响

处理 结果 项目	添加 BCM 浓度 (毫克/毫升)							对 照 组
	6.5	5.2	5.0	2.5	1.30	0.6	0.3	
菌落数 (个/皿)	0	0.1	0.1	0.7	1.4	1.5	0.9	0.8
被抑制率* (%)	100.0	87.5	87.5	12.5	+75.0	+87.5	+12.5	—

* 抑制率% = $\frac{\text{对照组菌数} - \text{添加组菌数}}{\text{对照组菌数}} \times 100\%$ 。

其他放线菌的生长，菌落数明显减少，所得灰红紫、灰褐和金色类群的放线菌对 BCM 有耐药性。当浓度在 2.5 毫克/毫升以下时，放线菌菌落生长数量增加，甚至超过对照组。当浓度为 0.3 毫克/毫升以下时，放线菌的菌落数趋向接近于对照组。结果表明添加 BCM 对放线菌菌落的出现数量和种群类型有一定影响。

二、添加 BCM 分离抗赤霉病菌有效放线菌的效果

在添加 BCM 2.5 和 5.0 毫克/毫升的培养基上，分离所得放线菌 361 株，在不添加 BCM 的琼脂培养基上分离所得放线菌 2419 株，分别培养，用培养液进行麦穗离体测定，再将其抗麦类赤霉菌有效菌株进行培养，分别进行麦穗田间测定，试验观察结果见表 2。

表 2 放线菌抗赤霉病的有效率

处理 结果 项目	麦穗离体测定			麦穗田间测定		
	总菌数	有效数	有效率 (%)	总菌数	有效数	有效率 (%)
添加 BCM	361	50	13.9	50	6	12.0
不添加 BCM	2419	230	9.5	230	9	3.9

表 2 说明，在麦穗离体和田间测定中，添加 BCM 分离所得放线菌中，抗赤霉菌的菌株分别占 13.9% 和 12.0%，而不添加 BCM 时，所得放线菌中则分别为 9.5% 和 3.9%。添加 BCM 分离放线菌，有助于提高抗麦类赤霉菌放线菌的有效率。

三、添加 BCM 分离放线菌与麦穗测定有效率的相关性

为表明添加 BCM 分离放线菌与麦穗测定有效率的内在关系,判断试验的可靠性,进行了统计卡方 (X^2) 独立性测定^[2]。

1. 添加 BCM 分离放线菌与麦穗离体测定有效率的关系: 计算结果见表 3。

表 3 添加 BCM 与穗测的卡方计算表

项目 结果 处 理	有效株数		无效株数		总 株
	实际观察数 (o)	理论数 (c)	实际观察数 (o)	理论数 (c)	
添加 BCM	59	36	311	325	361
不添加 BCM	230	244	2189	2125	2419
总株数	289		2500		2789

据 $X^2 = \sum \frac{(O - C)^2}{C}$, 计算得 $X^2 = 6.940$,

而经计算 $X^2 = 6.940 > 3.841$ 为显著, 假设与实际不符合, 则表明添加 BCM 分离放线菌与麦穗离体测定有效率是有关系的。

2. 添加 BCM 分离放线菌与麦穗田间测定有效率的关系: 同样计算 $X^2 = 3.983 > 3.841$, 也为显著, 说明添加 BCM 分离放线菌与麦穗田间测定有效率的关系密切。

讨 论

在筛选抗麦类赤霉病菌放线菌有效菌株过

程中, 一般需要从土壤中分离尽可能多的菌株, 并由其中找出所需的抗生素产生菌, 但不易迅速找到。所以人们常常在分离培养基中加入一些特殊物质(主要为抗生素), 这样对于分离新抗生素产生菌和提高分离菌株的拮抗性是极其有益的^[3-5]。本试验在分离培养基中添加 BCM, 得知对放线菌菌落的数量和种群类型有一定影响, 在一定浓度内, 随培养基中 BCM 浓度的增加, 所得放线菌菌落数减少。而添加 BCM 所得放线菌抗赤霉病菌的有效率比不添加为高。这可能是 BCM 化合物使一些放线菌被抑制, 另一些能产生与 BCM 类似物质的菌株, 则不受影响能够生长。在麦穗测定中, 提高了分离放线菌抗赤霉病的有效率。因此, 添加 BCM 分离放线菌, 可作为筛选抗赤霉病有效菌株的一种方法。但对有效菌株的分类和所产抗菌素是否类似 BCM 化合物, 还有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] 中国科学院微生物研究所, 放线菌分类组: 链霉菌鉴定手册, 11—13, 658—662, 科学出版社, 北京, 1975。
[2] 俞大维: 植物病理学和真菌学技术汇编, 2: 1024—1026, 1126, 人民教育出版社, 北京, 第一版, 1977。
[3] Rehm, H. J.: *Industrielle Mikrobiologie*, Springer-Verlag, Berlin-Heideiberg-New York, 1967, 徐浩译: 工业微生物学, 第 127 页, 科学出版社, 北京, 1975。
[4] 冈见吉郎: 化学と生物, 10(4): 266—267, 1972。
[5] Иваницкая, Л. П.: *Антибиотики*, 8: 690—692, 1978.