

顾丽婧. 壳寡糖对番茄灰霉病菌的抑制作用[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(9): 115–117.

# 壳寡糖对番茄灰霉病菌的抑制作用

顾丽婧

(唐山师范学院生命科学系, 河北唐山 063000)

**摘要:**研究了壳寡糖对番茄灰霉病菌的抑制作用, 分别测定在不同浓度梯度下灰霉病菌的菌落直径、产孢量、孢子萌发率, 观察了壳寡糖对菌丝生长形态的影响。结果表明, 壳寡糖的浓度越大对灰霉病菌的抑制作用越明显, 1 500 mg/L 的壳寡糖对菌丝生长的抑制率 1 d 时为 100%, 2 d 为 86.32%, 5 d 为 81.95%, 菌丝形态发生显著变化, 菌丝直径明显增粗, 菌隔增多, 该浓度下对灰霉病菌的产孢抑制率达到 83.82%, 抑制孢子萌发率达 52.97%。壳寡糖对灰霉病菌菌丝生长 2 d 的  $EC_{50}$  为 346.96 mg/L, 对灰霉病菌产孢的  $EC_{50}$  为 521.96 mg/L, 对孢子萌发的  $EC_{50}$  为 1 451.59 mg/L。

**关键词:**壳寡糖; 灰霉病菌; 菌丝生长; 产孢;  $EC_{50}$

**中图分类号:** S436.412.1<sup>+</sup>3

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1002–1302(2014)09–0115–02

番茄灰霉病是由灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea* Pers.) 侵染引起的病害, 主要危害果实和叶片, 引起果实腐烂。近年来, 该病的发生日趋严重, 已成为保护地番茄生产上最严重的病害之一, 发病严重的大棚, 病株率可达 100%, 产量损失 10%~30%, 严重影响番茄的产量和品质<sup>[1]</sup>。目前, 由于缺乏抗性品种, 生产上对化学防治的依赖性较大, 田间 1 个生长季节用药次数、剂量不断增加, 导致果实的农药污染和环境污染<sup>[2]</sup>。壳寡糖也叫壳聚寡糖, 学名  $\beta$ -1,4-寡糖-葡萄糖胺, 是将壳聚糖经特殊的生物酶技术处理而得到的一种水溶性好、生物活性高的低分子量产品。研究表明, 壳寡糖可诱导植物的抗病性, 对多种真菌、细菌和病毒有杀灭作用<sup>[3]</sup>。本试验利用壳寡糖作为抑菌物质, 研究壳寡糖不同浓度梯度对番茄灰霉病菌的菌落直径、菌丝形态、产孢量、孢子萌发率的影响, 以期壳寡糖作为一种生物抗菌剂应用于番茄绿色、优质、高效栽培提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

灰霉病菌: 采自河北省唐山市郊区保护地番茄灰霉病果, PDA 培养基分离、纯化。壳寡糖: 相对分子质量  $\leq 3\ 000$ , 脱乙酰度(DD)  $\geq 85\%$  (浙江澳兴科技生物有限公司生产)。番茄品种: 巨丰(唐山市农业科学研究院科技开发中心提供)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 壳寡糖对番茄灰霉病菌菌丝生长和产孢影响的测定

制备含壳寡糖浓度为 300、600、900、1 200、1 500 mg/L 的含药平板, 用打孔法反接 5 mm 的灰霉菌菌饼。25℃ 培养箱培养, 每天测量菌落直径, 待对照组菌落长满整个培养皿为止, 计算菌丝生长抑制率。光暗周期 12 h–12 h 交替条件下继续培养产孢, 分别取各浓度梯度的菌落打取直径为 5 mm 的菌饼

5 个, 用 2 mL 无菌水配制成孢悬液, 用血球计数板计数, 计算产孢抑制率。分别求出毒力回归方程, 计算  $EC_{50}$ 。

菌丝生长抑制率 = (对照组菌落直径 – 处理组菌落直径) / (对照组菌落直径 – 5 mm)  $\times 100\%$ ;

产孢量 = (孢子平均数 / 80)  $\times 4 \times 10^6$ 。

1.2.2 壳寡糖对番茄灰霉病菌孢子萌发影响的测定 灰霉病菌培养 9~10 d 后使其产孢, 加无菌水稀释至 40 倍镜下每视野 20~30 个, 用凹玻片加不同浓度的壳寡糖 21℃ 黑暗培养 12 h 后, 计算抑制孢子萌发率, 求出毒力回归方程, 计算  $EC_{50}$ 。

孢子萌发率 = 萌发芽孢子数 / 视野下总孢子数  $\times 100\%$ ;

抑制孢子萌发率 = (对照孢子萌发率 – 处理孢子萌发率) / 对照孢子萌发率  $\times 100\%$ 。

1.2.3 壳寡糖对番茄灰霉病菌菌丝形态影响的观察 在 PDA 平板上反接灰霉病菌 2 d 后, 在菌落边缘加 0.2 mL 的不同浓度壳寡糖溶液后竖插盖玻片, 待菌丝长到盖玻片上, 取出, 直接观察菌丝形态进行比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 壳寡糖对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制作用

从表 1 可以看出, 菌落直径随着壳寡糖浓度的增大呈现递降的趋势, 浓度越大抑菌效果越明显, 其中 300 mg/L 壳寡糖对菌丝生长的抑制率 1 d 时为 32.12%, 2 d 为 47.35%, 5 d 为 21.48%, 1 500 mg/L 的抑制率 1 d 时为 100%, 2 d 为 86.32%, 5 d 为 81.95%, 900 mg/L 以上的壳寡糖对菌丝生长的抑制率 5 d 内均大于 50%, 1 500 mg/L 的壳寡糖对菌丝生长抑制率 5 d 内均大于 80%。由表 2 可见, 不同处理天数下, 壳寡糖对菌丝生长的抑制中浓度  $EC_{50}$  不同。其中 2 d 的  $EC_{50}$  最小, 为 346.96 mg/L, 5 d 的  $EC_{50}$  最大, 为 629.65 mg/L。

### 2.2 壳寡糖对番茄灰霉病菌孢子产生及萌发的抑制作用

从表 3 可见, 壳寡糖对灰霉病菌的产孢量和孢子萌发率都有明显的抑制作用, 并且随着处理浓度的升高产孢量和萌发量降低, 抑制率增大。300 mg/L 条件下, 比对照组产孢量减少  $1.84 \times 10^7$  个, 抑制率达 33.82%; 孢子萌发率降低 13.60 百分点, 抑制孢子萌发率达到 18.38%。1 500 mg/L 条

收稿日期: 2014–04–14

基金项目: 河北省教育厅高等学校科学研究(编号: Z2012158); 河北省唐山市科技计划(编号: 12120207A)。

作者简介: 顾丽婧(1976—), 女, 山西汾阳人, 硕士, 副教授, 主要从事生物防治的研究。E-mail: glqjnts@163.com。

表 1 不同浓度壳寡糖对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制效果

处理浓度 (mg/L)	1 d		2 d		3 d		4 d		5 d	
	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)
0(对照)	13.25		34.25		55.00		70.50		79.25	
300	10.60	32.12	20.40	47.35	33.20	43.60	48.80	33.13	63.30	21.48
600	7.20	73.33	15.40	64.44	24.80	60.40	32.80	57.56	42.80	49.09
900	6.00	87.88	13.20	71.97	20.20	69.60	24.30	70.53	30.60	65.52
1200	5.40	95.15	10.80	80.17	16.25	77.50	20.75	75.95	24.75	73.40
1500	5.00	100.00	9.00	86.32	14.80	80.40	17.40	81.07	18.40	81.95

表 2 壳寡糖不同处理时间对番茄灰霉病菌菌丝生长抑制作用的毒力回归方程

处理时间 (d)	毒力回归方程	相关系数 (r)	抑制中浓度 EC <sub>50</sub> (mg/L)
1	$y = 3.8101x - 4.9598$	0.9852	411.20
2	$y = 1.6038x + 0.9259$	0.9824	346.96
3	$y = 1.4808x + 1.1615$	0.9970	391.00
4	$y = 1.8811x - 0.0662$	0.9950	493.41
5	$y = 2.3977x + 1.7114$	0.9977	629.65

表 3 壳寡糖对番茄灰霉病菌孢子产生及萌发的抑制效果

处理浓度 (mg/L)	孢子产量 ( $\times 10^7$ 个)	产孢抑制率 (%)	孢子萌发率 (%)	抑制孢子 萌发率(%)
0(对照)	5.44		74.00	
300	3.60	33.82	60.40	18.38
600	2.56	52.94	52.50	29.05
900	1.84	66.18	46.70	36.89
1200	1.44	73.53	40.60	45.14
1500	0.88	83.82	34.80	52.97

件下,比对照组产孢量减少  $4.56 \times 10^7$  个,抑制率高达 83.82%;孢子萌发率降低 39.2 个百分点,抑制孢子萌发率达到了 52.97%。

从表 4 可以看出,壳寡糖对灰霉病菌的产孢抑制率和孢子萌发率均符合线性关系,产孢 EC<sub>50</sub> 为 521.96 mg/L,孢子萌发的 EC<sub>50</sub> 为 1 451.59 mg/L。

表 4 壳寡糖对番茄灰霉病菌孢子产生及萌发抑制作用的毒力回归方程

指标	毒力回归方程	相关系数 (r)	抑制中浓度 EC <sub>50</sub> (mg/L)
产孢量抑制率(%)	$y = 1.9273x - 0.2377$	0.9819	521.96
抑制孢子萌发率(%)	$y = 1.3649x + 0.6844$	0.9866	1 451.59

2.3 壳寡糖对番茄灰霉病菌菌丝形态的影响

通过显微镜观察,对照组菌丝细长、细胞壁光滑(图 1);而不同浓度梯度的壳寡糖溶液处理组菌丝则出现不同程度的肿胀、菌丝变粗、分隔增多现象。壳寡糖浓度越大菌丝形态变化越明显(图 2、图 3)。

3 结论与讨论

为了减少对灰霉病防治的农药使用,科研人员研究了不同抑菌物质对灰霉病菌的抑制作用。黄芳等研究结果表明,用 0.1% 硼处理灰霉病菌孢子后,显著抑制了孢子萌发和芽管伸



图1 灰霉病菌菌丝形态 CK(160×)

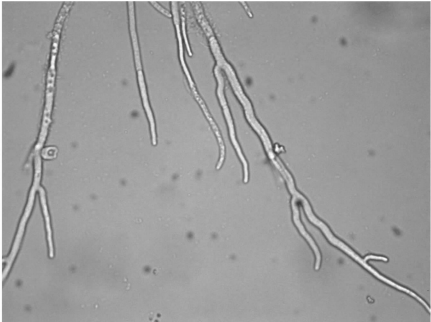


图2 900 mg/L 壳寡糖对灰霉病菌菌丝形态的影响(160×)

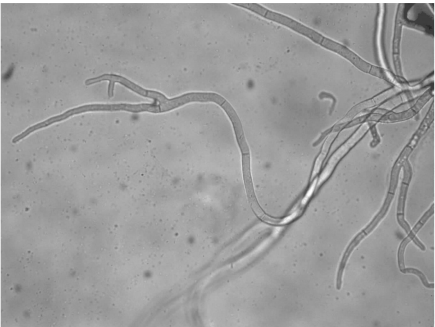


图3 1 500 mg/L 壳寡糖对灰霉病菌菌丝形态的影响(160×)

长<sup>[4]</sup>;白文苑等研究苍耳的丙酮提取物,其抑制菌丝生长的 EC<sub>50</sub> 为 20.27 mg/mL,在 30 mg/mL 浓度下,对番茄灰霉病菌孢子形成和孢子萌发的抑制率均在 70% 以上,对孢子形成和孢子萌发的 EC<sub>50</sub> 分别为 9.06、15.21 mg/mL<sup>[5]</sup>;廖敏等研究结果表明,硅酸钠在一定程度上能抑制灰霉病菌的生长<sup>[6]</sup>。本试验研究可食用的壳寡糖对番茄灰霉病菌生长的影响,结果表明,1 500 mg/L 壳寡糖对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制率均在 80% 以上,壳寡糖对菌丝生长 2 d EC<sub>50</sub> 使用浓度为

王程亮,徐丽君,倪 萌,等. 无锡地区桃园梨小食心虫发生规律[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):117-119.

# 无锡地区桃园梨小食心虫发生规律

王程亮<sup>1</sup>, 徐丽君<sup>1</sup>, 倪 萌<sup>1</sup>, 李元喜<sup>2</sup>, 亓兰达<sup>2</sup>, 安志芳<sup>2</sup>, 赵丽丽<sup>3</sup>, 王汝艳<sup>4</sup>, 沈 斐<sup>4</sup>

(1. 江苏省无锡市农业技术推广总站, 江苏无锡 214025; 2. 江苏省南京农业大学植物保护学院, 江苏南京 210095;

3. 江苏省无锡市惠山区林桑站, 江苏无锡 214174; 4. 江苏省无锡市惠山区阳山镇农业技术综合服务站, 江苏无锡 214156)

**摘要:**研究了梨小食心虫在无锡桃园的发生规律、越冬地点,测定了不同代老熟幼虫的过冷却点和冰点。结果表明,梨小食心虫在无锡地区的年发生代数与温度有关,年发生 5~6 代。春季温度较低,越冬代成虫发生较整齐,年发生 5 代;如早春温度偏高,则第 1 代发生期提前,造成严重世代重叠,年发生 6 代。每年高发期在 7—8 月,后期世代重叠严重。梨小食心虫老熟幼虫的过冷却点和冰点随代数增加而上升,越冬代老熟幼虫过冷却点在 1 年所有世代中最高,平均达 -10 ℃,可以在江苏无锡地区越冬,越冬地点在树皮翘缝下、老树皮下、枝条锯断处。田间采集幼虫自然羽化率为 24%,幼虫的田间被寄生率最高可达 57.89%,认为田间保护利用天敌可以对梨小食心虫起到较好控制效果。

**关键词:**梨小食心虫;无锡;节律;代数;寄生率;越冬

**中图分类号:** S436.621.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0117-03

梨小食心虫(*Grapholitha molesta* Busck)属鳞翅目小卷蛾科,是世界性害虫,别称梨小蛀果蛾、东方果蠹蛾,简称梨小<sup>[1-3]</sup>。分布于亚、欧、美、澳各大洲,在中国分布较广,各地果园均有发生,目前重发区在华北、华中、华南地区。主要危害桃、苹果、李、杏、海棠、樱桃、杨梅等寄主的新梢;危害梨、苹果、李、梅、杏、枣、木瓜、樱桃、山楂、枇杷等寄主的果实;危害枇杷等寄主的幼苗或嫩枝的枝干。水蜜桃是无锡主要出口创汇水果,2008 年梨小食心虫首次在无锡桃树上产生较大程度的危害,部分地区桃梢受害率高达 50%,据不完全统计,直接经济损失达 500 万元,严重影响了无锡水蜜桃的声誉。如不能有效地控制梨小食心虫的发生,势必对江苏无锡地区水蜜桃产业造成严重影响。梨小食心虫各代发生不整齐,世代明显重叠,欧、美及东南亚许多国家对其生物学、生态学和综合防治进行了大量研究,但由于地域、气候及天敌等差异,与无锡市的发生情况可能不一致,国内每年发生代数各地也不一致<sup>[4-10]</sup>。本研究利用性诱剂装置结合生产期间蛀梢率以及越冬地点调查,明确了梨小食心虫在江苏无锡地区年发生代

数及越冬场所,分析了梨小食心虫在江苏无锡桃园的发生规律,以期制订有针对性的综合治理措施提供技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 发生规律调查

发生规律调查主要采用性诱剂诱集的方法。田间调查试验地点位于江苏无锡市惠山区阳山镇,供试桃树品种为湖景蜜露,树龄 5 年,株行距 4 m,土壤为偏酸性黄壤土。供试梨小食心虫性诱剂和诱捕器均购自浙江宁波纽康生物技术有限公司,诱芯为橡皮头型(-15 ℃密封冷藏保存),诱捕器为黏胶型。将诱捕器悬挂于树冠北面的外围枝上,距地面约 1.5 m。悬挂 75 个/hm<sup>2</sup>,每年从 3 月中旬起开始观察,每天记录诱集到的梨小食心虫成虫数量,每 7 d 更换 1 次诱芯,每天更换 1 次黏板,至桃果收获结束为止。根据性诱剂诱集调查数据,分析田间梨小食心虫的发生动态,判断年发生世代。

### 1.2 梨小食心虫地区越冬情况

结合性诱剂诱蛾发生情况(始见期、终见期),在桃园中调查树干、锯断枝条、树缝、树皮、树根周围 1~10 cm 土层,记录调查到的幼虫数,分析越冬习性、数量,同时考察越冬代的存活率。田间在 9 月下旬、10—12 月、次年 1 月分别寻找、采集老熟幼虫,寻找部位分为树皮、断枝、枝干、树根周围 1.5 m 范围 5~10 cm 深土层,将发现的幼虫带回室内 25 ℃

收稿日期:2013-11-27

基金项目:江苏省无锡市科技支撑计划(编号:CLE00901)。

作者简介:王程亮,硕士,农艺师,主要从事果树病虫害预测预报与综合防治。E-mail:wangchengliang520@qq.com。

通信作者:徐丽君。E-mail:xulijun1980@hotmail.com。

346.96 mg/L,低于苍耳丙酮提取物;而对菌丝形态变化的观察表明,在浓度为 1 500 mg/L 时,出现最大程度的肿胀、菌丝变粗、分隔增多的现象。1 500 mg/L 壳寡糖对灰霉菌产孢量抑制率高达 83.82%,对孢子萌发的最大抑制率达 55.97%。表明壳寡糖对番茄灰霉菌生长有一定的抑制作用,本试验结果为壳寡糖作为一种绿色药剂防治番茄灰霉病提供了科学依据。

## 参考文献:

[1] 王克勤. 灰霉菌菌抗药性研究进展及防治对策[J]. 黑龙江农业科学,2000,7(5):40-42.

[2] 张新虎,何 静,沈慧敏. 苍耳提取物对番茄灰霉菌的抑制作用及抑菌机理初探[J]. 草业学报,2008,17(3):99-104.

[3] 张 筠,杜 鹏,张亚东. 壳寡糖抑菌作用的研究[J]. 食品工业科技,2009,30(1):88-90.

[4] 黄 芳,王建国,徐玉梅. 硼抑制灰霉菌孢子萌发机制的初步研究[J]. 植物病理学报,2008,38(4):370-376.

[5] 白文苑,沈慧敏. 苍耳愈伤组织提取物对番茄灰霉菌的抑菌活性[J]. 甘肃农业大学学报,2008,43(4):82-86.

[6] 廖 敏,李 森. 硅对草莓灰霉病的防治效果研究[J]. 宿州教育学院学报,2011,14(2):174-176.