

王晓峨,刘恩玲.壳聚糖-铜的抑菌性能[J].江苏农业科学,2015,43(4):160-161.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.057

# 壳聚糖-铜的抑菌性能

王晓峨<sup>1,2</sup>,刘恩玲<sup>1,2</sup>

(1.温州科技职业学院,浙江温州 325006; 2.浙江省温州市农业科学院生态环境研究所,浙江温州 325006)

**摘要:**为了研究壳聚糖-铜的抑菌性能,采用生长速率法测定 2 种脱乙酰度壳聚糖-铜对番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、番茄黑霉病菌(*Alternaria brassicicola*) 2 种真菌的抑菌效果。结果表明,2 种脱乙酰度壳聚糖-铜均具有抑菌作用,脱乙酰度为 95% 的壳聚糖-铜抑菌效果最好,2 种脱乙酰度的壳聚糖-铜最佳浓度为 30 g/L。  
**关键词:**壳聚糖-铜;灰霉病;黑霉病;抑菌作用;番茄  
**中图分类号:** S482.2<sup>+</sup>5   **文献标志码:** A   **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0160-02

含铜化合物是常用的抗菌剂,既能防治真菌性病害,又能防治细菌性病害<sup>[1-2]</sup>。田间直接应用含铜化合物容易造成局部铜离子浓度过高,影响作物生长,造成药害,同时存在药效维持时间较短的缺陷,并对生态环境造成不良影响<sup>[3-6]</sup>。开发载体化铜制剂,使铜离子附着于载体上以低浓度缓慢释放,既可避免铜离子浓度过高产生药害,又可以延长药效期。壳聚糖(CTS)作为目前自然界唯一发现的碱性多糖类天然高分子,在抑制真菌、细菌、病毒等方面效果较好<sup>[7-9]</sup>,同时壳聚糖是一种优良的载体材料。壳聚糖与金属离子螯合后可增加抑菌效果<sup>[10-11]</sup>。本研究利用壳聚糖对金属离子的吸附与螯合作用,开发具有缓释性能的壳聚糖铜杀菌剂,采用脱乙酰度为 90%、95% 的壳聚糖作为铜素杀菌剂的载体,利用 2 种植物病原真菌对其抑菌性能进行试验,比较 2 种不同脱乙酰度壳聚糖铜复合物的抑菌性能,以期筛选出最佳抑菌性能的壳聚糖-铜复合物。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 原料 将 8.0 g 硫酸铜溶于 400 mL 蒸馏水中,滴加硫酸调节 pH 值为 4~5,加入脱乙酰度分别为 90%、95% 的壳聚糖 10.0 g,40 ℃水浴恒温振荡 90 min,抽滤干燥待用。

1.1.2 供试菌种 供试菌种番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、番茄黑霉病菌(*Alternaria brassicicola*)均取自田间发病番茄果实,经常规组织分离法,按照柯赫氏法则进行验证所得。

1.1.3 PDA 琼脂培养基 马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 值自然。

1.1.4 基础培养 将 2 种病原菌分别在 PDA 琼脂培养基上培养 5 d,培养皿直径均为 90.0 mm。

### 1.2 方法

1.2.1 壳聚糖-铜抑菌试验 采用生长速率法进行室内抑

菌效果测定,先将供试的脱乙酰度为 90%、95% 的壳聚糖-铜制成 10、20、30、35 g/L 浓度梯度的含药培养基,同时以不含药的培养基作为对照,各处理及对照均设 3 次重复。无菌条件下,将培养好的病原菌用直径为 4 mm 的打孔器打取菌饼,然后用接种铲将菌饼接入含药的培养基与对照培养基正中央,菌丝面朝下,置于 25 ℃恒温箱内培养。培养 5 d 后测量病原菌在不同浓度脱乙酰度 90% 的壳聚糖-铜培养基上的菌落直径,计算不同浓度脱乙酰度为 90%、95% 的壳聚糖-铜对菌落的生长抑制率。

1.2.2 壳聚糖-铜的抑菌效果计算 抑制率计算公式如下:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照组菌落直径}} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

2.1 脱乙酰度为 90% 的壳聚糖-铜对番茄灰霉病菌的抑菌效果

表 1 表明,番茄灰霉病菌在不含药剂 PDA 琼脂培养基上菌丝生长速度最快,培养 5 d 菌丝直径可达 83.0 mm,含不同浓度的脱乙酰度 90% 壳聚糖-铜对番茄灰霉病菌均具有一定的抑菌效果。当脱乙酰度 90% 壳聚糖-铜浓度达 30 g/L 时,对番茄灰霉病菌的抑菌效果最好,抑菌率达 61.2%,继续增加浓度,抑菌效果下降。因此,脱乙酰度 90% 的壳聚糖-铜的最佳使用浓度为 30 g/L。

表 1 脱乙酰度 90% 的壳聚糖-铜对番茄灰霉病菌的抑制效果

壳聚糖-铜 浓度(g/L)	菌落直径(mm)				抑菌率 (%)
	重复 I	重复 II	重复 III	平均值	
10	61.0	60.0	61.0	60.7	26.9bB
20	50.5	48.0	50.0	49.5	40.4cC
30	33.5	32.0	31.0	32.2	61.2eE
35	44.5	45.0	43.0	44.2	46.7dD
0(CK)	83.0	83.0	83.0	83.0	0aA

注:同列数据后不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ ),不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下表同。

2.2 脱乙酰度 95% 的壳聚糖-铜对番茄灰霉病菌的抑菌效果

表 2 表明,不同浓度脱乙酰度为 95% 的壳聚糖-铜对番

茄灰霉病菌均具有抑菌效果,当脱乙酰度为 95% 的壳聚糖 - 铜浓度为 30 g/L 时,对番茄灰霉病菌的抑菌效果最好,抑菌率达 87.7%,且该浓度药剂可导致菌落生长趋于老化,菌落边缘菌丝稀疏,综合抑菌效果明显,继续增加浓度,抑菌效果下降。因此,脱乙酰度 95% 壳聚糖 - 铜的最佳使用浓度为 30 g/L。脱乙酰度 95% 壳聚糖 - 铜对番茄灰霉病菌的抑制效果比脱乙酰度为 90% 壳聚糖 - 铜抑菌效果更明显,抑菌效果更好。

表 2 脱乙酰度 95% 的壳聚糖 - 铜对番茄灰霉病菌的抑制效果

壳聚糖 - 铜 浓度 (g/L)	菌落直径 (mm)				抑菌率 (%)
	重复 I	重复 II	重复 III	平均值	
10	37.5	36.0	35.0	36.2	56.4bB
20	26.5	25.0	25.5	25.7	69.0cC
30	11.0	9.5	10.0	10.2	87.7eE
35	20.5	21.0	22.5	21.3	74.3dD
0 (CK)	83.0	83.0	83.0	83.0	0aA

2.3 脱乙酰度为 90% 的壳聚糖 - 铜对番茄黑霉病菌的抑菌效果

表 3 表明,番茄黑霉病菌在不含药剂 PDA 琼脂培养基上生长速度最快,培养 5 d 菌丝直径可达 74.0 mm,含不同浓度的脱乙酰度为 90% 的壳聚糖 - 铜对番茄黑霉病菌均具有一定的抑菌效果。当脱乙酰度为 90% 的壳聚糖 - 铜浓度达到 30 g/L 时对番茄黑霉病菌的抑菌效果最好,抑菌率达 59.9%,继续增加浓度,抑菌效果下降。因此,脱乙酰度为 90% 的壳聚糖 - 铜的最佳使用浓度为 30 g/L。

表 3 脱乙酰度 90% 的壳聚糖 - 铜对番茄黑霉病菌的抑制效果

壳聚糖 - 铜 浓度 (g/L)	菌落直径 (mm)				抑菌率 (%)
	重复 I	重复 II	重复 III	平均值	
10	53.5	54.0	55.5	54.3	26.8bB
20	37.5	36.0	38.0	37.2	49.7eE
30	30.5	29.0	29.5	29.7	59.9dD
35	40.5	43.0	41.0	41.5	43.9cC
0 (CK)	74.0	74.0	74.0	74.0	0aA

2.4 脱乙酰度为 95% 的壳聚糖 - 铜对番茄黑霉病菌的抑菌效果

表 4 表明,不同浓度的脱乙酰度为 95% 的壳聚糖 - 铜对番茄黑霉病菌均具有一定的抑菌效果,当脱乙酰度为 95% 的壳聚糖 - 铜浓度为 30 g/L 时,对番茄黑霉病菌的抑菌效果最好,抑菌率达 82.7%,且该浓度药剂可导致菌落生长趋于老化,菌落边缘菌丝稀疏,综合抑菌效果明显,继续增加浓度,抑菌效果下降。因此,脱乙酰度为 95% 的壳聚糖 - 铜的最佳使用浓度为 30 g/L。脱乙酰度为 95% 的壳聚糖 - 铜对番茄黑霉病菌的抑制效果比脱乙酰度为 90% 的壳聚糖 - 铜抑菌效果更明显,抑菌效果更好。

表 4 脱乙酰度 95% 的壳聚糖 - 铜对番茄黑霉病菌的抑制效果

壳聚糖 - 铜 浓度 (g/L)	菌落直径 (mm)				抑菌率 (%)
	重复 I	重复 II	重复 III	平均值	
10	38.5	39.0	40.0	39.2	47.0bB
20	23.5	22.0	24.0	23.2	68.6dC
30	14.0	12.5	12.0	12.8	82.7eD
35	25.5	27.0	25.5	26.0	64.9cC
0 (CK)	74.0	74.0	74.0	74.0	0aA

3 结论

2 种脱乙酰度壳聚糖铜素复合物对 2 种病原菌的抑菌效果测试结果表明,2 种复合物都具有一定的抑菌作用,相比较而言,脱乙酰度为 95% 的壳聚糖 - 铜的抑菌效果更好,这与前人研究结论<sup>[12]</sup>相符。2 种脱乙酰度的壳聚糖 - 铜的最佳抑菌浓度均为 30 g/L。

参考文献:

[1] 史有艳. 铜素杀菌剂及其合理应用[J]. 农村科技开发,2004 (2):28.

[2] 韩林,韩学斋,尹树玳. 铜素杀菌剂的种类及使用[J]. 河北果树,2002(2):31-32.

[3] 常红岩,孙百晔,刘春生. 植物铜素毒害研究进展[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2000,31(2):227-230.

[4] 史学功,张建梅,张祥申. 谈谈铜制剂的药害及其预防[J]. 烟台果树,2005(3):48.

[5] 蔡道基,单正军,朱忠林,等. 铜制剂农药对生态环境影响研究[J]. 农药学报,2001,3(1):61-68.

[6] 倪吾钟,马海燕,余慎,等. 土壤-植物系统的铜污染及其生态健康效应[J]. 广东微量元素科学,2003,10(1):1-5.

[7] Tikhonov V E,Stepnova E A,Babak V G,et al. Bactericidal and antifungal activities of a low molecular weight chitosan and its *N*-/2(3)-(dodec-2-enyl)succinoyl/-derivatives[J]. Carbohydrate Polymers,2006,64(1):66-72.

[8] Li Y C,Sun X J,Bi Y,et al. Antifungal activity of chitosan on fusarium sulphureum in relation to dry rot of potato tuber[J]. Agricultural Sciences in China,2009,8(5):597-604.

[9] 郑连英,朱江峰,孙昆山. 壳聚糖的抗菌性能研究[J]. 材料科学与工程,2000,18(2):22-24.

[10] Wang X H,Du Y M,Fan L H,et al. Chitosan-metal complexes as antimicrobial agent;Synthesis,characterization and structure-activity study[J]. Polymer Bulletin,2005,55(1/2):105-113.

[11] Wang X H,Du Y M,Liu H. Preparation,characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex[J]. Carbohydrate Polymers,2004,56:21-26.

[12] 王鸿,沈月新. 不同脱乙酰度壳聚糖的抑菌性[J]. 上海水产大学学报,2001,10(4):380-382.