真菌源寡聚糖对几种植物病原菌的抑制作用*

孙　辉[1,2], 马　青[1], 杜昱光[2], 白雪芳[2], 商鸿生[1]
(1 西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨陵 712100; 2 中国科学院 大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023)

[摘　要]　用培养基加药法研究了两种寡聚糖(质量分数 5% 寡聚半乳糖醛酸; 质量分数 2% 氨基寡糖素) 对黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerirum*)、小麦赤霉病菌(*Gibberella zeae*)、苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)的皿内抑菌效果, 同时用悬滴法测定了寡聚糖对黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*)和小麦条锈病菌(*Puccinia striiformis* West.)孢子萌发的影响。结果表明: 两种寡聚糖对上述几种植物病原菌的生长和萌发均有不同程度的抑制作用, 其作用大小因寡聚糖的质量分数和病原菌而异。

[关键词]　寡聚糖; 植物病原菌; 抑制作用
[中图分类号]　S432.2+3　　[文献标识码]　A　　[文章编号]　1671-9387(2003)01-0127-04

寡聚糖有多方面的生物活性, 已经在许多领域进行了研究和开发[1]。通过生物学和化学方法可以将病原菌和植物细胞壁降解成不同成分的寡聚糖素[2]。寡聚糖作为一种前景可观的生物农药, 对植物防御病害和生长发育都具有重要作用。研究表明[3~6], 这种具有生物活性的寡聚糖具有诱导植物产生抗病性的作用, 但其对植物病原菌是否具有直接的抑制作用, 目前研究甚少。本试验用培养基加药法和悬滴法, 测定了中科 2 号和中科 6 号两种寡聚糖的不同处理对几种植物病原菌的抑制作用。

1　材料与方法

1.1　供试药剂

寡聚糖中科 2 号(质量分数 5% 寡聚半乳糖醛酸) 和中科 6 号(质量分数 2% 氨基寡糖素) 由中国科学院大连化学物理研究所提供。

1.2　供试病原菌

黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerirum*)、小麦赤霉病菌(*Gibberella zeae*)、苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)由西北农林科技大学植物保护学院普病实验室提供; 黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*)采自田间自然发病的病株; 小麦条锈病菌(*Puccinia striiformis* West.)由西北农林科技大学植物保护学院锈病实验室提供。

1.3　培养基加药抑菌试验

菌种制备　在无菌条件下, 从各供试病原菌斜面上挑取菌块放在 PDA 平板中央, 在 26 ℃条件下培养后备用。在无菌条件下, 用 0.7 cm 的打孔器在菌落边缘打出 10 个菌饼备用。

带药培养基的制备　用移液管(枪) 将中科 2 号和中科 6 号两种寡聚糖分别移取 15.0, 3.0, 1.5, 0.5 mL 于灭过菌的三角瓶中, 然后倒入融好的培养基(冷却到 45 ℃左右) 至 150 mL, 分别制成浓度为 10, 50, 100 和 300 倍的带药培养基, 迅速摇匀, 立即倒入 9 cm 的培养皿中, 制成薄厚均匀的平板。

接菌　在无菌条件下, 用接种针小心地将菌饼移置在含药培养基上, 菌丝一面向下, 每皿中央放 1 块菌饼, 然后盖好并标记, 置 26 ℃温箱中培养。每个浓度 3 个重复, 并设不含寡聚糖的空白作为对照。

调查方法　接种后每隔 24 h 调查 1 次, 用尺子十字交叉量取菌落直径大小, 连测 7 次。

1.4　悬滴法测定孢子萌发

将两种寡聚糖分别稀释成 10, 50, 100 和 300 倍液, 制成孢子悬浮液(孢子浓度为低倍镜下每视野 50~100 个/mL), 用胶头滴管吸取孢子悬浮液滴在盖玻片上, 倒扣在涂有凡士林的小玻璃管口(下端亦用凡士林固定在载玻片上), 标记后放入大培养皿中, 室温下保湿 24 h 后调查孢子萌发情况。

* [收稿日期]　2002-09-11
[基金项目]　国家自然科学基金资助项目(39980012); 农业部引进先进农业技术"948 项目"(981046)
[作者简介]　孙　辉(1978-), 女, 黑龙江友谊人, 在读硕士, 主要从事植物免疫学研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2 结果与分析

2.1 中科 2 号对几种植物病原菌生长的抑制作用

对带药培养基上几种植物病原菌落直径大小的测定表明, 不同浓度药剂对病原菌的生长具有不同程度的抑制作用, 且对不同病原菌的影响也不相同。黄瓜枯萎病菌的菌落直径随浓度增加而减小, 各处理浓度之间差别较明显, 300 倍浓度处理与对照较接近, 10 倍浓度的抑制作用最强; 小麦赤霉病菌只有 10 倍浓度处理的受抑制作用最强, 其余各浓度处理与对照几乎没有差别; 苹果炭疽病菌与小麦赤霉病菌的情况相似, 10 倍浓度的抑制作用相对于同一病原菌的其他处理稍强, 但不如对小麦赤霉病菌的抑制作用强烈; 对照的玉米大斑病原菌菌落生长迅速, 远远大于各药剂处理的结果, 且各药剂浓度处理之间差别不大(图 1)。

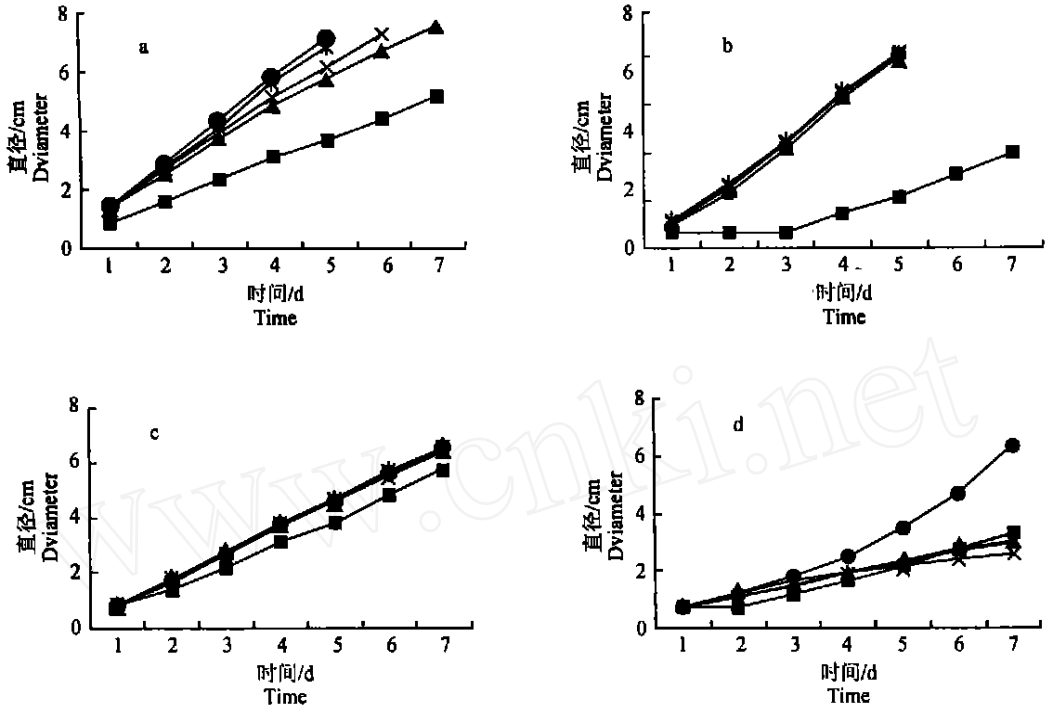

图 1 中科 2 号对病原菌生长的影响

a. 黄瓜枯萎病菌; b. 小麦赤霉病菌; c. 苹果炭疽病菌; d. 玉米大斑病菌

-●-. 对照(CK); -■-. 10 倍; -▲-. 50 倍; -×-. 100 倍; -*-. 300 倍

Fig. 1 Effects of Zhongke 2 upon the growth of pathogens

a. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerirum*; b. *Gibberella zeae*; c. *Glomerella cingulata*; d. *Exserohilum turcicum*

-●-. CK; -■-. 10×; -▲-. 50×; -×-. 100×; -*-. 300×

药剂处理除抑制病原菌菌落的大小外, 还对菌落的形态产生影响, 如对小麦赤霉病菌, 10 倍处理时明显抑制菌落线性生长, 导致菌丝很短, 肉眼几乎无法看到, 而对照的菌丝较长, 甚至可以触及培养皿顶端。由以上结果可见, 中科 2 号药剂处理对植物病原菌落生长存在一定的抑制作用, 这种抑制作用在 10 倍浓度处理中表现的最为突出, 在 50, 100 和 300 倍浓度处理中相对较弱。

2.2 中科 6 号对几种植物病原菌生长的抑制作用

中科 6 号药剂处理对小麦赤霉病菌、玉米大斑病菌、黄瓜枯萎病菌、苹果炭疽病菌等病原菌抑制作用的测定结果表明, 小麦赤霉病菌的菌落在 50, 100 和 300 倍处理下生长良好, 菌落大小与对照差别不大, 仅菌丝略显稀疏, 没有对照的菌丝浓密, 10 倍处理时菌丝生长受抑, 没有形成菌落; 玉米大斑病菌对照的菌落生长速率高于各浓度处理, 菌落边缘的菌丝延伸较长, 生长旺盛, 但边缘不整齐, 而 50～300 倍药剂处理的菌落边缘整齐, 菌落生长速率与浓度大小呈正相关, 10 倍处理没有形成菌落; 黄瓜枯萎病菌的菌落随药剂处理浓度的增加有变小的趋势, 各浓度处理与对照均有一定差异, 10 倍处理的病菌生长完全受抑; 苹果炭疽病菌 50, 100 和 300 倍浓度处理较对照生长稍慢, 菌落直径小, 但菌落形态没有变化, 与其他 3 种病原菌不同的是, 苹果炭疽病菌 10 倍处理的菌落可以生长, 但生长很慢, 且菌落形态发生变化, 整个菌落很小, 呈规则的圆形, 菌丝致

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

密均匀, 呈纯白色(图 2)。

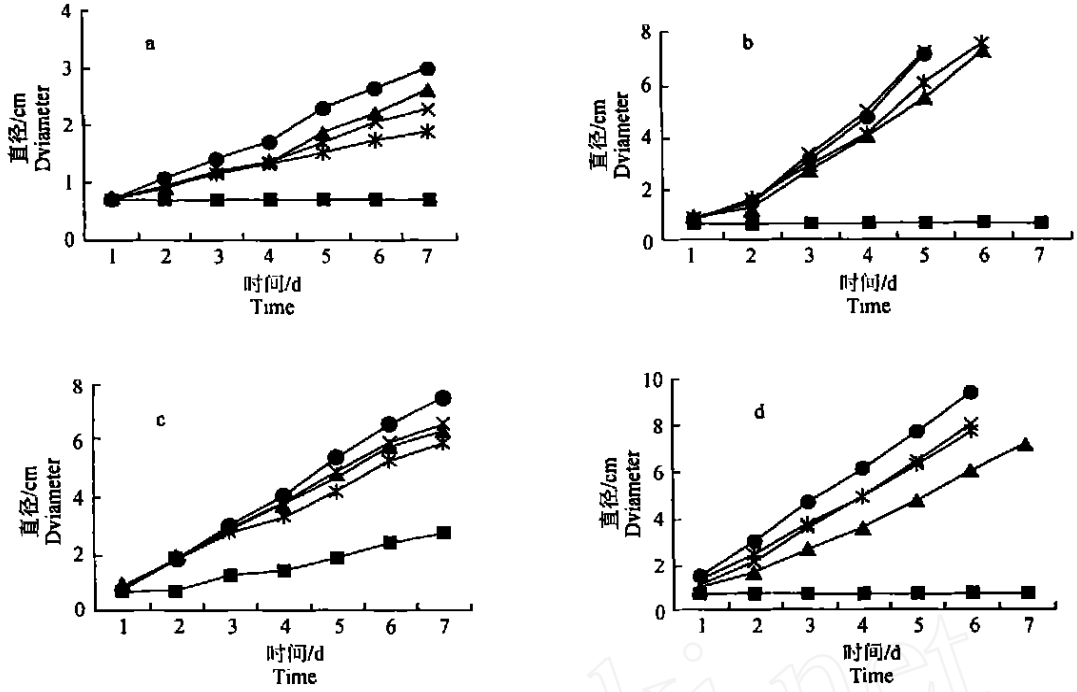

图 2　中科 6 号对病原菌生长的影响

a. 玉米大斑病菌; b. 小麦赤霉病菌; c. 苹果炭疽病菌; d. 黄瓜枯萎病菌

-●-. 对照(CK); -■-. 10 倍; -▲-. 50 倍; -×-. 100 倍; -*-. 300 倍

Fig. 2　Effects of Zhongke 6 upon the growth of pathogens

a. *Exserohilum turcicum*; b. *Gibberella zeae*; c. *Glomerella cingulata*; d. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerirum*

-●-. CK; -■-. 10×; -▲-. 50×; -×-. 100×; -*-. 300×

以上结果表明, 中科 6 号对上述 4 种植物病原菌的生长也具有抑制作用, 且与浓度相关, 高浓度如 10 倍处理几乎不能生长。

2.3　悬滴法测定孢子萌发

由表 1 可知, 不同浓度的药剂处理均对孢子萌发产生影响, 孢子不萌发或萌发率不同程度地降低。寡聚糖对小麦条锈病菌萌发的抑制作用要弱于黄瓜霜霉病菌, 两种寡聚糖的作用效果也存在较大的差异, 中科 6 号的抑制作用更强烈, 10, 50 倍溶液中的两种病原菌孢子都不能萌发, 在低浓度中的萌发率也很低。

表 1　寡聚糖对两种病原菌的孢子萌发的影响

Table 1　Effects of oligosaccharides on the spore germination of two phytopathogens　　%

病菌 Pathogens	寡聚糖 Oligosaccharides	处理 Treatment									
		CK		10 倍		50 倍		100 倍		300 倍	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
小麦条锈菌 *P. striiformis*	中科 2 号 Zhongke 2	5.69		0	100	3.10	45.52	4.13	27.42	4.77	16.17
	中科 6 号 Zhongke 6			0	100	0	100	3.60	36.73	5.52	2.99
黄瓜霜霉病菌 *P. cubensis*	中科 2 号 Zhongke 2	23.65		4.29	81.87	4.75	79.92	16.30	31.08	23.19	1.95
	中科 6 号 Zhongke 6			0	100	0	100	0.26	98.90	2.46	89.60

注: A. 孢子萌发率; B. 抑制率。

Note: A. Mean incidence of spore germination (%); B. Mean inhibition incidence (%).

3　讨　论

寡聚糖可以作为抗病性反应的激发子激活植物体的防御反应, 从而提高植物的抗病性[7]。寡聚糖这种诱发系统抗病性的特性, 为病害防治提供了新方法、新思路, 成为目前抗病性研究的热门话题[8]。但是, 作为植物系统诱导抗病性的化学诱导剂, 不应对病原菌具有体外和体内抑菌活性[5]。胡健等[2]研究

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表明, 壳寡糖具有抑制植物病原菌生长的作用。因而有必要检查类似物质是否具有抑菌活性。本研究结果表明, 中科 2 号和中科 6 号两种药剂对上述 4 种病原菌均存在不同程度的抑制作用, 抑制作用的强弱因药剂浓度和病原菌而异。总体来讲, 高浓度抑制作用较为强烈, 如 10 倍药液处理与对照具有显著差异, 中科 2 号 10 倍处理菌落直径很小, 中科 6 号的 10 倍处理病菌几乎不能生长; 50, 100 和 300 倍低浓度处理对病原菌也有抑制作用, 但作用较弱。此外, 寡聚糖对孢子萌发也有影响。

本试验证实, 寡聚半乳糖醛酸和氨基寡糖素对于植物病原菌的体外生长具有直接的抑制作用, 因而此类化学物质可能有多方面的控病作用。此外, 寡聚糖对植物体内病原菌的作用尚待今后进一步研究。

[参考文献]

[1] 黄丽萍, 刘宗明, 姚 波, 等. 甲壳质、壳聚糖在农业上的应用[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(5): 60- 64.

[2] 杜昱光, 白雪芳, 李曙光, 等. 寡聚糖生物农药对棉花体内细菌数量和作物生长的作用[J]. 中国微生态学杂志, 2001, 13(2): 70- 72.

[3] 赵 蕾, 梁存元, 刘延荣, 等. 壳聚糖对烟草抗黑胫病的作用[J]. 应用与环境生物学报, 2000, 6(5): 436- 439.

[4] Hadwiger L. Host-parasite interactions: elicitation of defense responses in plants with chitosan[A]. Jolles P, Muzzarell R A A, ed. Chitin and Chitinases[C]. Boston: Birkhauser, 1999. 185- 200.

[5] Vander P. Comparison of the ability of partially n-acetylated chitosans and chitooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves[J]. Plant Physiol, 1998, 118: 1353- 1359.

[6] Behamou N, Lafontaine P J, Nicole M. Induction of systemic resistance to fusarium crown and rot in tomato plants by seed treatment with chitosan[J]. Phytopathology, 1994, 84: 1432- 1444.

[7] Sticher L, Mauch-Mani B, Métraux J P. Systemic acquired resistance[J]. Annu Rev Phytopathol, 1997, 35: 235- 270.

[8] Tiuterev S. Mechanism of action and ways of using chitosan as ecologically safe means in enhancement of plant disease resistance[J]. Arch Phytopathol Plant Prot, 1996, 30(4): 323- 332.

Inhibition of fungal oligosaccharides to the growth of pathogenic fungi

SUN Hui[1], MA Qing[1], DU Yu-guang[2], BAI Xue-fang[2], SHANG Hong-sheng[1]

(1 *College of Plant Protection, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*;

2 *Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian, Liaoning* 116023, *China*)

Abstract: The inhibition of two oligosaccharides, oligogalacturonide and oligochitosan, to the mycelial growth was studied by injecting the culture medium at different concertrations in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerirum*, *Gibberella zeae*, *Glomerella cingulata* and *Exserohilum turcicum*. The effects of oligosaccharides on spore germination were evaluated in *Pseudoperonospora cubensis* and *Puccinia striiformis* West. The results indicated that oligosaccharides had inhibition on phytopathogens, and the degree of inhibition depends on the concentration of oligosaccharides.

Key words: oligosaccharide; phytopathogen; inhibition

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net