

壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的防治效果研究

黄大野¹ 向朝晖² 周世位² 王章伟² 孟祥生² 汪敬之² 曾凡勇²
曹春霞^{1*} 万中义^{1*} 杨自文¹

(¹湖北省生物农药工程研究中心, 湖北武汉 430064; ²湖北省恩施州鹤峰县农业局, 湖北恩施 445800)

摘要: 采用盆栽试验研究壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的防治效果和减药效果。结果表明, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 壳寡糖喷雾诱导茄子幼苗 3 次, 对茄子棒孢叶斑病具有良好的防治效果, 防效达 62.56%。防御酶超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性均显著提高。100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 壳寡糖诱导 3 次后喷施 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啞酰菌胺与单独喷施 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啞酰菌胺均能显著降低茄子棒孢叶斑病病情指数, 且二者防效相当, 表明壳寡糖具有明显的减药作用。

关键词: 壳寡糖; 茄子棒孢叶斑病; 防治效果; 减药效果

茄子棒孢叶斑病是由多主棒孢菌 (*Corynespora cassiicola*) 引起的一种茄子重要病害, 在多数茄子种植区都有发生。前人已有关于茄子棒孢叶斑病的报道 (黄朝豪和李增平, 1991; 李明远等, 2001), 近年来茄子棒孢叶斑病在我国茄子主产区为害逐年加重, 田间发病率可达 30%~50% (高莘

等, 2012; 王爽等, 2014), 严重降低了茄子的产量和品质, 造成了重大的经济损失。我国茄子栽培大多以温室栽培为主, 适合的温湿度条件也加重了茄子棒孢叶斑病的发生。由于缺乏相应的抗性品种, 化学防治仍然是防治该病害的主要手段, 但该病菌对化学杀菌剂极易产生抗药性, 目前已经报道其对苯并咪唑类、二甲酰亚胺类、乙霉威和甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂产生了抗药性 (Hasama et al., 1991; Date et al., 2004; Ishii et al., 2007)。同时, 化学杀菌剂的大量使用也会造成农药残留及环境污染, 亟须寻找防治棒孢叶斑病更为安全有效的方法。

壳寡糖是一种安全环保的新型寡糖类抗病诱导剂, 是由 2~20 个氨基葡萄糖通过 β -1, 4-糖苷键

黄大野, 男, 助理研究员, 专业方向: 微生物杀菌剂与作物病害防治,
E-mail: xiaohuangdaye@126.com

* 通讯作者 (Corresponding authors): 曹春霞, 女, 研究员, 专业方向:
农药剂型研究, E-mail: Caochunxia@163.com; 万中义, 男, 研究员,
专业方向: 微生物天然产物, E-mail: wanzhongyi1964@126.com

收稿日期: 2017-04-24; 接受日期: 2017-06-06

基金项目: 湖北省自然科学基金重点类项目 (2016ABA103), 湖北省农业科技创新中心创新团队项目 (2016-620-000-001-038)

Province, Shouguang 262700, Shandong, China; ²College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Key Laboratory for Biology of Vegetable Diseases and Insect Pests in Shandong Province, Tai'an 271018, Shandong, China)

Abstract: In order to clarify the occurrence of *Tomato chlorosis virus* (ToCV) on eggplant in Shandong Province, this paper detected and identified by RT-PCR the samples of eggplant leaves prospectively infected by ToCV and also the viruliferous percentage of ToCV in *Bemisia tabaci* adults on infected eggplant plants. The results showed that 463 bp specific fragments were amplified from the detected samples and 6 samples were positive for ToCV and the positive percentage was 60%. The CP gene of positive samples were cloned and sequenced, sharing over 99.0% nucleotide identity with a tomato isolate from Beijing (BJ). Moreover, ToCV could be detected in *B. tabaci* on ToCV-infected eggplant plants and the viruliferous percentage of ToCV was 70%.

Key words: Regions in Shandong Province; Eggplant; *Tomato chlorosis virus* (ToCV); Molecular identification; *Bemisia tabaci*; Viral transmission

连接而成的低聚糖,它是一种有效的植物诱抗激发子,能激活植物自身免疫力,提高抗病性能,已在防治植物病害方面显示出巨大的潜力(王文霞等,2015)。本试验旨在确定壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的防治效果及探索诱导抗性的机理,寻找防治茄子棒孢叶斑病更为安全有效的新方法,为进一步的田间应用提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验于2016年10月在湖北省农业科学院温室内进行,供试茄子品种为茄杂2号,由河北省农业科学院蔬菜花卉研究所选育。供试菌株为茄子棒孢叶斑病原菌,由湖北省生物农药工程研究中心分离和保存。

供试药剂:85%壳寡糖原药,由中国科学院大连化学物理研究所提供;50%啶酰菌胺水分散剂,购于德国巴斯夫有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的防效 将茄子棒孢叶斑病原菌从斜面活化到PDA平板,25℃黑暗条件下培养10d,随后用无菌手术刀片刮去菌丝,在BLB(black light blue)灯下25℃培养3d产孢(Miyamoto et al., 2009)。刷取孢子溶于无菌水中,调整孢子浓度为 1×10^4 个 \cdot mL $^{-1}$ 后备用。

将茄子种子催芽后播于32孔深穴盘,温室常规管理。试验设3个处理,每个处理3次重复,每个重复16株苗。壳寡糖处理:将壳寡糖用无菌水溶解并稀释至 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,出苗10d后喷施叶片进行诱导,以叶片全湿但不流滴为准,每隔7d诱导1次,共3次;啶酰菌胺处理:待茄子生长至三叶期时,将啶酰菌胺有效成分稀释至 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 喷施叶片;以喷施无菌水作为对照处理。24h后各处理喷施病原菌孢子悬浮液,25℃保湿培养3d,统计病情指数并计算防效。

病害分级按照Ishii等(2007)的标准。0级:无病斑;0.1级:病斑占叶面积小于1%;0.5级:病斑占叶面积1%~5%;1级:病斑占叶面积6%~10%;2级:病斑占叶面积11%~20%;3级:病斑占叶面积21%~30%;4级:病斑占叶面积31%~40%;5级:病斑占叶面积41%~50%;6

级:病斑占叶面积51%~60%;7级:病斑占叶面积61%~70%;8级:病斑占叶面积71%~80%;9级:病斑占叶面积81%~90%;10级:病斑占叶面积大于90%。

病情指数 = $\sum(\text{各级植株数} \times \text{级别}) / (\text{调查总株数} \times \text{最高级数}) \times 100$

防治效果 = $(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数} \times 100\%$

1.2.2 壳寡糖对茄子防御酶系的影响 茄子幼苗三叶期喷施 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 壳寡糖水溶液,每隔2d喷雾1次,共喷施3次;对照喷施无菌水。每个处理3次重复,每个重复16株苗。在喷雾前(0d)和第1次喷雾后第2、4、6、8天取叶片装入锡箔袋中。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用NBT(氮蓝四唑)显色法测定(刘炳辉等,2008),过氧化物酶(POD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性的测定按照Chen等(2009)的方法。

1.2.3 壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的减药作用 按照1.2.1的方法,使用 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 壳寡糖诱导茄子幼苗3次,待幼苗三叶期叶片平展后喷施 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺水溶液;另一个药剂处理只喷施 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺水溶液,对照喷施清水。每个处理3次重复,每个重复16株苗。施药24h后喷施病原菌孢子悬浮液,随后25℃保湿培养3d,统计各处理病情指数并计算防效。

1.3 数据处理

试验数据采用DPS v7.05软件进行统计分析,显著性水平采用Duncan's新复极差法分析。

2 结果与分析

2.1 壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的防治效果

从表1可以看出,壳寡糖对茄子棒孢叶斑病具有良好的防治效果,在浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 条件下,防治效果可达62.56%,病情指数显著低于对照; $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺的防效最佳,达91.76%。

表1 壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的防效

处理	病情指数	防效/%
$100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 壳寡糖	33.37 b	62.56
$200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺	7.34 c	91.76
无菌水(CK)	89.13 a	—

注:表中同列数据后不同小写字母表示差异显著($\alpha=0.05$),下表同。

2.2 壳寡糖对茄子防御酶系的影响

由图1~3可知,经 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 壳寡糖诱导3次后,与植株抗病性相关的SOD、POD和CAT活性均有不同程度的提升,均显著高于无菌水对照。壳寡糖诱导后茄子幼苗防御酶活性总体上先升高后降低,在第1次喷雾后第2天取样时达到最大值。

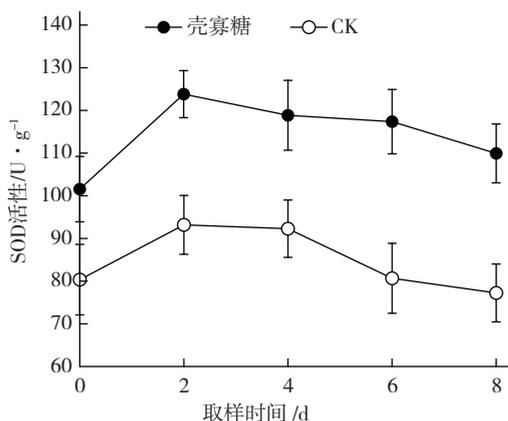


图1 壳寡糖处理下茄子幼苗的SOD活性变化

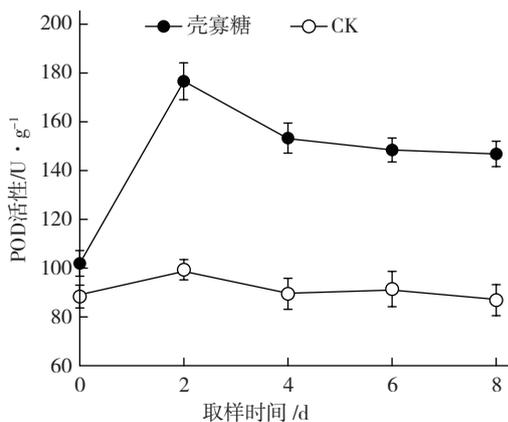


图2 壳寡糖处理下茄子幼苗的POD活性变化

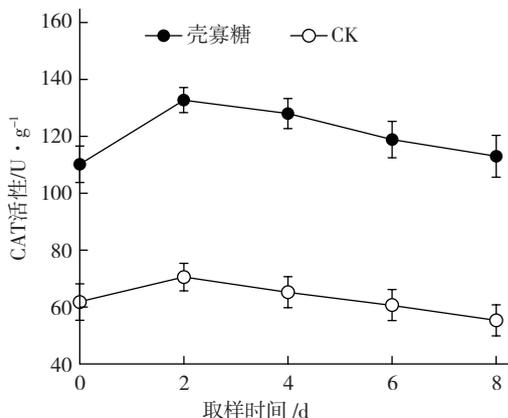


图3 壳寡糖处理下茄子幼苗的CAT活性变化

2.3 壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的减药效果

从表2可以看出,壳寡糖诱导3次后喷施 $50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺与单独喷施 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺均能显著降低茄子棒孢叶斑病病情指数,且二者防效相当,表明壳寡糖对啶酰菌胺防治茄子棒孢叶斑病具有减药效果。

表2 壳寡糖对茄子棒孢叶斑病的减药效果

处理	病情指数	防效/%
$100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 壳寡糖+ $50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺	15.83 b	83.06
$100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 啶酰菌胺	17.49 b	81.29
无菌水(CK)	93.46 a	—

3 结论与讨论

本试验首次报道了壳寡糖对多主棒孢菌引起的茄子棒孢叶斑病的诱导抗病性,试验结果表明壳寡糖对茄子棒孢叶斑病具有良好的防治效果,与王文霞等(2015)报道的壳寡糖对多种作物的真菌、细菌和病毒病害具有良好防治效果的结果一致。

植物诱导抗性的产生通常是通过酶催化调节而实现的, PAL、POD、PPO 等是植物防御反应的重要酶系,已成为寄主与病原互作过程中评价植物抗病性的重要生理指标(吴岳轩等,1996)。本试验中,经过壳寡糖诱导后的茄子叶片 POD、SOD、CAT 活性显著提高,表明其可能是防治茄子棒孢叶斑病的重要机制。

多主棒孢菌(*C. cassicola*)对杀菌剂抗性风险较高, Miyamoto 等(2009)的研究表明,同一化学药剂连续喷施3次以上植株抗药性出现几率显著增加。因此,在棒孢叶斑病的防治过程中一定要减少杀菌剂的使用频率和剂量,这样才可能达到抑制抗药菌株出现的目的。本试验结果表明,壳寡糖对防治棒孢叶斑病及减药增效具有良好的效果,在作物棒孢叶斑病的防治中具有广阔的应用前景。目前生产上已经登记了一些壳寡糖和杀菌剂复配的产品(王文霞等,2015),可以大大降低化学农药的使用量,提高施药效果,降低用药成本,具有推广价值。虽然壳寡糖与杀菌剂复配使用增效效果显著,但是其中的机理还需要进一步研究。

参考文献

高苇,李宝聚,石延霞,谢学文. 2012. 茄子棒孢叶斑病病原菌鉴

- 定及致病性研究. 植物病理学报, 42 (2): 113-119.
- 黄朝豪, 李增平. 1991. 海南岛蔬菜病害种类调查及病原鉴定. 热带农业科学, (2): 61-70.
- 李明远, 李兴红, 张涛涛, 王靖, 严红. 2001. 辽宁发生茄子棒孢叶斑病. 植物保护, 27 (6): 48-49.
- 刘炳辉, 董晓颖, 李志军, 李培环. 2008. 硬肉桃果实成熟前后几种与果实软化相关的生理指标的变化. 植物生理学通讯, 44 (5): 887-890.
- 王爽, 黄贵修, 李博勋, 孔祥义. 2014. 海南茄子棒孢霉叶斑病病原菌鉴定及生物学特性研究. 现代农业科技, (20): 106-112.
- 王文霞, 赵小明, 杜昱光, 尹恒. 2015. 寡糖生物防治应用及机理研究进展. 中国生物防治学报, 31 (5): 757-769.
- 吴岳轩, 曾富华, 王荣臣. 1996. 杂交稻对白叶枯病的诱导抗性与细胞内防御酶系统关系的初步研究. 植物病理学报, 26 (2): 127-131.
- Chen Y F, Zhan Y, Zhao X M, Guo P, An H L, Du Y G, Han Y R, Liu H, Zhang Y H. 2009. Functions of oligochitosan induced resistance and pathogenesis related protein kinase in *Tobacco mosaic virus* proteins in tobacco. *Plant Physiology & Biochemistry*, 47: 724-731.
- Date H, Kataoka E, Tanina K, Sasaki S, Inoue K, Nasu H, Kasuyama S. 2004. Sensitivity of *Corynespora cassiicola*, causal agent of *Corynespora* leaf spot of cucumber, to thiophanate-methyl, diethofencarb and azoxystrobin. *Japanese Journal of Phytopathology*, 70 (1): 10-13.
- Hasama W, Morita S, Kato T. 1991. Control of *Corynespora* target leaf spot of cucumber by use of negatively-correlated cross resistance between benzimidazole fungicides and diethofencarb. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 57: 319-325.
- Ishii H, Yano K, Date H, Furuta A, Sagehashi Y, Yamaguchi T, Sugiyama T, Nishimura K, Hasama W. 2007. Molecular characterization and diagnosis of QoI resistance in cucumber and eggplant fungal pathogens. *Phytopathology*, 97 (11): 1458-1466.
- Miyamoto T, Ishii H, Seko T, Kobori S, Tomita Y. 2009. Occurrence of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid on cucumber in Ibaraki Prefecture, Japan. *Plant Pathology*, 58 (6): 1144-1151.

Studies on Controlling Effect of Oligosaccharide on *Corynespora* Leaf Spot of Eggplant

HUANG Da-ye¹, XIANG Zhao-hui², ZHOU Shi-wei², WANG Zhang-wei², MENG Xiang-sheng², WANG Jing-zhi², ZENG Fan-yong², CAO Chun-xia^{1*}, WAN Zhong-yi^{1*}, YANG Zi-wen¹

(¹Hubei Biopesticide Engineering Research Center, Wuhan 430064, Hubei, China; ²Agriculture Bureau of Hefeng County, Enshi Prefecture of Hubei Province, Enshi 445800, Hubei, China)

Abstract: This paper studied the effect of oligosaccharide on controlling eggplant *Corynespora* leaf spot and reducing the dose. The results indicated that spraying oligosaccharide with 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ concentration for 3 times, the controlling effect on eggplant *Corynespora* leaf spot was pretty good, and the control effect was up to 62.56%. The activities of SOD, POD and CAT were obviously increased. After spraying oligosaccharide with 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ concentration for 3 times, then spray boscalid with 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ concentration, the control effect was similar to that of only spraying boscalid with 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ concentration. Both methods could obviously reduce the disease index of eggplant *Corynespora* leaf spot, and the effect of reducing the dose was obviously observed.

Key words: Oligosaccharide; Eggplant *Corynespora* leaf spot; Controlling Effect; Reducing the dose

欢迎订阅 2018 年《吉林蔬菜》

《吉林蔬菜》原名《蔬菜科技》，是由吉林省委主管、吉林省蔬菜花卉科学研究院主办的科技期刊。创刊于1974年，公开发行。《吉林蔬菜》杂志秉持“关注民生，服务三农”的信念，传种菜之经，播科技之火，引致富之路，做农民之友，不断提升《吉林蔬菜》杂志的品牌形象。主要栏目包括蔬菜栽培、植物医院、新优品种、保鲜加工、试验报告、工作研究、园林花卉、食用菌专栏、技术创新、菜业资讯等。是蔬菜种植者、种子经销商、

生产管理人员、农业院校、农业科技推广部门的重要参考读物和宣传媒体。月刊，邮发代号 12-151，每期订价 10 元，全年 120 元。

地址：吉林省长春市净月经济开发区千册路 555 号

邮编：130033

联系人：齐心 13504487898

E-mail: jlshuca@163.com

编辑部电话：0431-2532029