

甲壳素衍生物叶面肥对冬枣抗病性的影响

张柱岐 (滨州职业学院, 山东滨州 256603)

摘要 [目的]研究甲壳素衍生物叶面肥对冬枣抗病性的影响,以期减少冬枣用药,为冬枣绿色生产奠定良好的基础。[方法]“枣丰素”叶面肥由滨州海大生物研究所自主研制,水溶性、分子量为30 000的壳聚糖,络合氮、磷、钾、腐殖酸及铁、锌、硼等微量元素。试验设置3个浓度处理(100、125、150 mg/kg),喷施清水为对照,研究7月中旬、7月下旬、8月中旬和9月下旬不同浓度“枣丰素”对冬枣叶片抗锈病、黑斑病的影响。[结果]7月中旬、7月下旬、8月中旬和9月下旬4个时期喷施125 mg/kg浓度的“枣丰素”对增强冬枣的抗锈病和抗黑斑病性极为显著,喷施100和150 mg/kg浓度的“枣丰素”对增强冬枣的抗病性不显著,但比对照要有所提高。[结论]喷施125 mg/kg浓度的“枣丰素”对防治冬枣锈病、黑斑病可获得最佳效果。

关键词 冬枣;甲壳素衍生物;叶面肥;抗病性

中图分类号 S147.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)28-13653-02

Effect of Foliar Fertilizer of Chitin Derivatives-“Zaofengsu” on Disease Resistance of Winter Jujube

ZHANG Zhu-Qi (Binzhou Vocational College, Binzhou, Shandong 256603)

Abstract [Objective] The purpose was to study the effect of foliar fertilizer of chitin derivatives on disease resistance of winter jujube so as to decrease the medication on winter jujube and lay a good foundation for the green production of winter jujube. [Method] The “Zaofengsu” foliar fertilizer was developed independently by Binzhou Haida Biological Research Institute, it was water-soluble chitosan with molecular weight of 30 000 and was complex of N, P, K, humic acid and the microelements of Fe, Zn and B etc. The 3 concentration. treatments (100, 125, 150 mg/kg) were set up in the test with the clean water spraying as control one to study the effects of “Zaofengsu” with different concentration at the middle 10 d of July, at the last 10 d of July, middle 10 d of August and the last 10 d of Sep. on leaf rust resistance and black spot of winter jujube leaves. [Result] The 125 mg/kg “Zaofengsu” sprayed at 4 periods of the middle 10 d of July, the last 10 d of July, middle 10 d of August and the last 10 d of Sep. had extremely significant result on strengthening the anti-leaf rust and anti-black spot of winter jujube, and the spraying of the “Zaofengsu” at 100 and 150 mg/kg were not obviously boosted up the disease resistance of winter jujube, but had some improvement than the control ones. [Conclusion] The best result of controlling the disease of rust and black spot of winter jujube could be obtained by spraying of the “Zaofengsu” at 125 mg/kg.

Key words Winter jujube; Chitin derivatives; Foliar fertilizer; Disease resistance

滨州冬枣又称沾化冬枣,因品质极佳,市场开发前景广阔。冬枣生产已成为滨州市的主导产业和农民增加收入的重要来源^[1-2]。滨州面临海洋,甲壳素原料丰富。许多研究表明,低分子量的壳聚糖对植物具有生理调节作用^[3],有一定的抑菌效果^[4],壳聚糖对防治苹果、梨、桃、草莓、辣椒、番茄等果蔬病害具有重要作用^[5-7],同时可提高葡萄的叶片光合速率,提高果实的可溶性固形物和糖的含量,但对含酸量影响不明显^[8]。在前期研究的基础上,笔者于2006年利用“枣丰素”叶面肥对冬枣抗病性的影响进行了试验。

1 材料与方 法

1.1 材料 试验选择沾化县下洼乡东平村王子尧枣园,冬枣品种为5年生的嫁接苗,砧木为无棣小枣,胸径12 cm,冠幅2 m,株行距为2 m×3 m,年内基础施肥(追肥)共为3次,其中4月底追施尿素和磷酸二铵各0.5 kg/棵;6月初追施尿素和磷酸二铵各0.5 kg/棵;8月初追施硫酸钾0.2 kg/棵,有机肥(大粪)0.5 kg/棵。土质现场取样化验分析结果为:总氮(N)含量为87.92 mg/kg;有效磷(P₂O₅)含量为49.00 mg/kg;氧化钾(K₂O)含量为575.76 mg/kg;有机质含量为20.20 g/kg。对各处理间冬枣苗木进行变异系数分析和方差分析,发现区组间差异不显著,因此可以认为处理前各试验小区的苗木大小相当,处于同一水平。

“枣丰素”叶面肥,由滨州海大生物研究所张孟海教授领导的课题组自主研制。课题组根据冬枣膨大前期的需肥规律,将试验自制水溶性、分子量为30 000的壳聚糖,络合氮、

磷、钾、腐殖酸及铁、锌、硼等微量元素,制成“枣丰素”。

器材:喷雾器。

1.2 方 法

1.2.1 试验处理。试验设置了CK(喷清水)以及100、125、150 mg/kg“枣丰素”3个浓度处理。采用随机区组排列,每个处理10棵树,3个重复,设置隔离行和保护行。从2006年4月下旬到8月上旬,根据冬枣不同生长发育期需肥特性,对冬枣树进行叶面喷施处理,每15 d喷施1次。喷雾标准为90 ml/m²,上掏下盖,以叶面分布均匀且不滴水为准。

1.2.2 抗病性调查。沾化县下洼镇冬枣叶片的主要病害为锈病(环剥后至7月底开始发生)、黑斑病,因此调查病叶以锈病、黑斑病为准。于叶面喷施处理后的7月中旬、7月下旬、8月中旬、9月下旬,在各小区分别随机调查该区域内所有冬枣树的叶片,每棵冬枣树每次皆按东西南北中5个方位取树体中部叶位不同枣吊的2片叶,共计10片叶,计算病叶率。

2 结果与分析

2.1 7月中旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响 由图1可以看出,在7月中旬,不同浓度的“枣丰素”处理较对照抗病性均有不同程度的提高,其中以125 mg/kg浓度的“枣丰素”对冬枣的抗病效果最好。

2.2 7月下旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响 由图2可以看出,在7月下旬,不同浓度的“枣丰素”处理较对照抗病性均有不同程度的提高,其中以125 mg/kg浓度的“枣丰素”对冬枣的抗病效果最好。

2.3 8月中旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响 由图3可以看出,在8月中旬,不同浓度的“枣丰素”处理较对照抗病率均有不同程度的提高,其中以125 mg/kg浓度的

基金项目 山东省科技厅项目[鲁科计字(2002)279号文]。

作者简介 张柱岐(1973-),男,山东莱阳人,硕士,讲师,从事园艺、生物技术的教学及研究工作。

收稿日期 2009-07-20

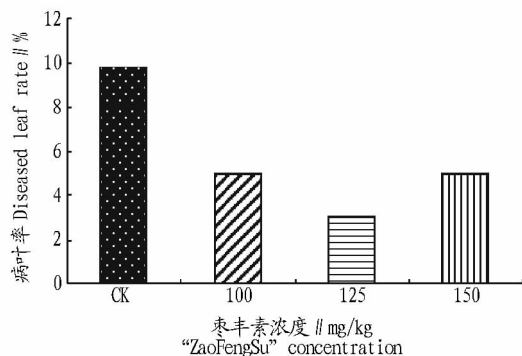


图1 7月中旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响

Fig. 1 Effect of “ZaoFengSu” with different concentrations on resistance of jujube in the middle ten-day of July

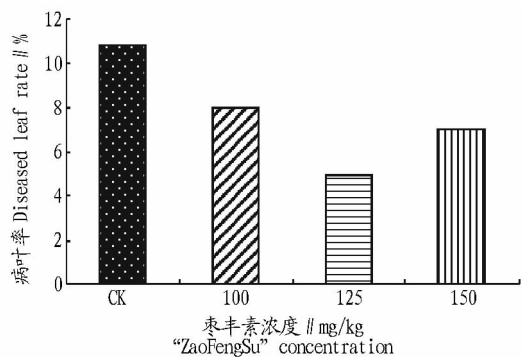


图2 7月下旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响

Fig. 2 Effect of “ZaoFengSu” with different concentrations on resistance of jujube in the last ten-day of July

“枣丰素”对冬枣的抗病效果最好。

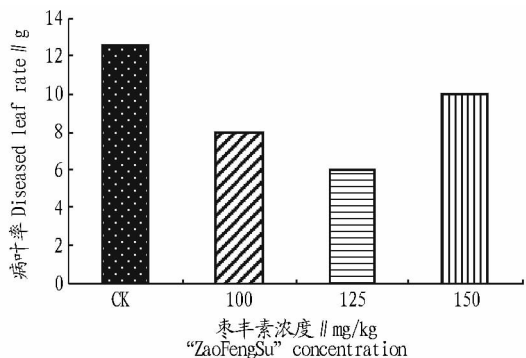


图3 8月中旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响

Fig. 3 Effect of “ZaoFengSu” with different concentrations on resistance of jujube in the middle ten-day of August

2.4 9月下旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响 由图4可知,在9月下旬,不同浓度的“枣丰素”处理较对照抗病率均有不同程度的提高,其中以125 mg/kg浓度的“枣丰素”对冬枣的抗病效果最好。

3 结论与讨论

(1)用张孟海教授试验自制的水溶性、分子量为30 000(低分子量)的壳聚糖络合氮、磷、钾、腐殖酸及铁、锌、铜、硼等微量元素制成的“枣丰素”叶面肥,喷施后冬枣抗病性均有所提高,这种现象可能与以下原因有关:①该浓度有利于光合作用,可提高叶片光合速率,利于光合产物的积累,树体营养较好,从而抗病性较强。②由于壳聚糖及其衍生物与锌、铜等微量元素形成的配合物具有明显的抗氧化活性,形

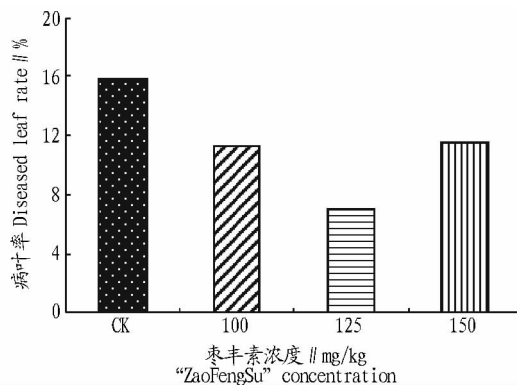


图4 9月下旬不同浓度“枣丰素”对冬枣抗病性的影响

Fig. 4 Effect of “ZaoFengSu” with different concentrations on resistance of jujube in the last ten-day of September

成配合物后具有加和性和增效性,从而对病原菌(苹果腐烂菌)具有明显的抑制效果^[7]。

(2)于汉寿等曾在对甲壳素增强植物抗性机理的研究中发现,植物抗病性的增强是因为甲壳素对与抗病性相关的几丁质酶的活性具有诱导作用^[9]。在壳聚糖存在的情况下,病原真菌的几丁质酶活性会被壳聚糖激发出来;这与现代生物化学中讲述酶具有诱导作用机理相符^[10]。在该试验中,冬枣叶片抗病性的增强,在与对照树体的生态条件(温度、光照、水分等)没差异的条件下,光合速率的增加是否也是因为甲壳素对光合作用的酶系统具有诱导作用所致,叶绿素含量是否升高^[9,11],尚需要进一步研究。

(3)喷施100、125、150 mg/kg 3个不同浓度的“枣丰素”较对照抗病性均有不同程度的提高,这与刘楠经过对壳聚糖抑菌机制的初步探讨,表明由于壳聚糖带有正电荷的原因,可以吸附到带有负电荷的细胞的表面,从而实现其抑菌作用的研究相符^[12]。同时与“枣丰素”能够增强光合作用,有利于光合产物的积累,从而使植株生长健壮、抗病性增强有关;还可能与甲壳素能诱导作物在短时间内产生大量多种抗性物质,使作物自身免疫能力大大提高^[13]有关。

(4)对冬枣锈病、黑斑病的防治,以喷施125 mg/kg浓度的“枣丰素”效果最好,喷施100、150 mg/kg浓度较对照效果也有所提高。

(5)壳聚糖为纯天然产品,无毒、无味,原料丰富,使用方便,又不影响果蔬风味,而且试验表明,“枣丰素”产品在冬枣生产中抗病效果较显著,比较符合现代生产绿色果品叶面肥的标准。滨州盛产虾蟹,甲壳素蕴藏量十分丰富,因而“枣丰素”产品有着广阔的开发和利用前景,将会促进滨州冬枣品质的提高,推动滨州冬枣产业健康、持续发展。

参考文献

- [1] 刘春杰,谢韶颖.滨州市冬枣产业发展现状及对策[J].林业科技开发,2003,17(2):61-62.
- [2] 孙士宗,李凤云,孟祥宁.提高鲁北冬枣果品质量的几点建议[J].中国果树,2006(2):49-51.
- [3] ASAO Y, KAZAMA K, KAWAMATA H. Plant physiological activity enhances containing water soluble chitosan. Jpn Kokai Tokkyo Koho, JP 08283104[P]. 208.
- [4] 路振香,路颖,商常发,等.壳聚糖对5种细菌体外的抑制试验[J].动物医学进展,2006,27(3):62-64.
- [5] 寿森炎,冯壮志,陈旭艇,等.壳聚糖诱导番茄抗青枯病的作用[J].植物保护学报,2005,32(2):120-124.

(下转第13657页)

对 Mx 蛋白的深入研究、科学地评估 IFN 的效果以及指导 IFN 有效利用具有重要意义。

(4) 由于 Mx 基因具有高度多态性,是不同个体表现出不同疾病易感性的重要原因之一,且具有抗病毒活性的 Mx 基因的有效表达与鱼类的抗病性密切相关。这一关系,提示 Mx 基因有可能作为抗病育种筛选的功能标记基因,在鱼类抗病毒育种中具有重要意义。因此,深入研究 Mx 基因及其多态性,将有助于推动鱼类抗病育种的研究步伐。

(5) 此外, Mx 蛋白的广谱抗病毒效应已被证实,且 Mx 蛋白主要是在胞内发挥抗病毒作用,推测以基因药物的方式使 Mx 基因在细胞内表达,有助于发挥其抗病毒作用。因此,开发 Mx 基因制剂可为病毒性疾病的防治提供新的思路。

参考文献

- [1] LINDENMANN J. Resistance of mice to mouse adapted influenza A virus [J]. *Virology*, 1962, 16: 203 - 204.
- [2] LEE S H, VIDAL S M. Functional diversity of Mx proteins; variations on a theme of host resistance to infection [J]. *Genome Res*, 2002, 12(4): 527 - 530.
- [3] LEONG J C, TROBRIDGE G D, KIM C H, et al. Interferon - inducible Mx proteins in fish [J]. *Immunol Rev*, 1998, 166: 349 - 363.
- [4] NAGATA K, MIBAYASHI M. The Mx protein that confers the resistance to influenza virus [J]. *Nippon Rinsho*, 1997, 55(10): 2654 - 2659.
- [5] STAEHEL P, YU Y S, GROB R, et al. A double stranded RNA inducible fish gene homologous to the murine influenza virus resistance gene Mx [J]. *Mol Cell Biol*, 1989, 9(7): 3117 - 3121.
- [6] FERNÁNDEZ-TRUJILLO M A, GARCÍA-ROSADO E, ALONSO M C, et al. In vitro inhibition of sole aquabornavirus by Senegalese sole Mx [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2008, 24(2): 187 - 193.
- [7] YAP W H, TAY A, BRENNER S, et al. Molecular cloning of the pufferfish (*Takifugu rubripes*) Mx gene and functional characterization of its promoter [J]. *Immunogenetics*, 2003, 54(10): 705 - 713.
- [8] PLANT K P, THUNE R L. Cloning and characterisation of a channel catfish (*Ictalurus punctatus*) Mx gene [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2004, 16(3): 391 - 405.
- [9] TAFALLA C, ARANGUREN R, SECOMBES C J, et al. Cloning and analysis of expression of a gilthead sea bream (*Sparus aurata*) Mx Cdna [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2004, 16(1): 11 - 24.
- [10] ZHANG Y B, LI Q, GUI J F. Differential expression of two *Carassius auratus* Mx genes in cultured CAB cells induced by grass carp hemorrhage virus and interferon [J]. *Immunogenetics*, 2004, 56(1): 68 - 75.
- [11] ZEN KE K, KIM K H. Molecular cloning and expression analysis of three Mx isoforms of rock bream, *Oplegnathus fasciatus* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2009, 26(4): 599 - 605.
- [12] LEE J Y, HIRONO I, AOKI T. Cloning and analysis of expression of Mx cDNA in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Dev Comp Immunol*, 2000, 24(4): 407 - 415.
- [13] 王伟, 白俊杰, 劳海华, 等. 草鱼 Mx 蛋白基因的克隆与原核表达 [J]. *中国水产科学*, 2003, 10(5): 365 - 369.
- [14] DE ZOYSA M, KANG H S, SONG Y B, et al. First report of invertebrate Mx: cloning, characterization and expression analysis of Mx cDNA in disk

- abalone (*Haliotis discus discus*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2007, 23(1): 86 - 96.
- [15] ROBERTSEN B. The interferon system of teleost fish [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2006, 20: 172 - 191.
- [16] TROBRIDGE G D, CHIOU P P, LEONG J A. Cloning of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mx2 and Mx3 cDNAs characterization of trout Mx Protein expression in salmon cells [J]. *Virology*, 1997, 71(1): 5304 - 5311.
- [17] SAINT-JEAN S R, PÉREZ-PRIETO S I. Interferon mediated antiviral activity against salmonid fish viruses in BF-2 and other cell lines [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2006, 110(1/2): 1 - 10.
- [18] FALCO A, CHICO V, MARROQUI L, et al. Expression and antiviral activity of a beta-defensin-like peptide identified in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) EST sequences [J]. *Mol Immunol*, 2008, 45(3): 757 - 765.
- [19] KILENG O, BRUNDTLAND M I, ROBERTSEN B. Infectious salmon anemia virus is a powerful inducer of key genes of the type I interferon system of Atlantic salmon, but is not inhibited by interferon [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2007, 23(2): 378 - 389.
- [20] SU J, ZHU Z, WANG Y, et al. Toll-like receptor 3 regulates Mx expression in rare minnow *Gobiocypris rarus* after viral infection [J]. *Immunogenetics*, 2008, 60(3/4): 195 - 205.
- [21] KIM C H, JOHNSON M C, DRENNAN J D, et al. DNA vaccines encoding viral glycoproteins induce nonspecific immunity and Mx protein synthesis in fish [J]. *Virology*, 2000, 74(15): 7048 - 7054.
- [22] CAIPANG C M A, HIRONO I, AOKI T. In vitro inhibition of fish rhabdovirus by Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* Mx [J]. *Virology*, 2003; 317: 373 - 382.
- [23] WU Y C, CHI S C. Cloning and analysis of antiviral activity of a barramundi (*Lates calcarifer*) Mx gene [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2007, 23(1): 97 - 108.
- [24] LIN C H, CHRISTOPHER JOHN J A, LIN C H, et al. Inhibition of nervous necrosis virus propagation by fish Mx proteins [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351(2): 534 - 539.
- [25] ZOU J, TAFALLA C, TRUCKLE J, et al. Identification of a second group of type I IFNs in fish sheds light on IFN evolution in vertebrates [J]. *J Immunol*, 2007, 179(6): 3859 - 3871.
- [26] LARSEN R, ROKENES T P, ROBERTSEN B. Inhibition of infectious pancreatic necrosis virus replication by Atlantic salmon Mx1 protein [J]. *J Virol*, 2004, 78: 7938 - 7944.
- [27] TNRISU H, KUSUHAMA K, KIM R, et al. Functional MxA promoter polymorphism associated with subacute sclerosing panencephalitis [J]. *Neurology*, 2004, 62(3): 457 - 460.
- [28] KO J H, TAKADA A, MITSUHASHI T, et al. Native antiviral specificity of chicken Mx protein depends on amino acid variation at position 631 [J]. *Anim Genet*, 2004, 35: 119 - 122.
- [29] BENFIELD C T, LYALL J W, KOCHS G, et al. Asparagine 631 variants of the chicken Mx protein do not inhibit influenza virus replication in primary chicken embryo fibroblasts or in vitro surrogate assays [J]. *Virology*, 2008, 82(15): 7533 - 7539.
- [30] TROBRIDGE G D, LAPATRA S E, KIM C H, et al. Mx mRNA expression and RFLP analysis of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* genetic crosses selected for susceptibility or resistance to IHNV [J]. *Dis Aquat Organ*, 2000, 40(1): 1 - 7.
- [31] NYGAARD R, HUSGARD S, SOMMER A I, et al. Induction of Mx protein by interferon and double stranded RNA in salmonid cells [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2000, 10: 435 - 450.

(上接第 13654 页)

- [6] 刁春英. 壳聚糖对苹果梨 (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) 黑斑病 (*Alternaria Rot*) 的控制及其防腐机制的探讨 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2001.
- [7] 刘松. 壳聚糖衍生物金属配合物的制备及其抑菌、抗氧化活性研究 [D]. 青岛: 中国科学院研究生院 (海洋研究所), 2004.
- [8] 赵新节, 孙玉霞, 管雪强, 等. 甲壳素在葡萄上的应用试验 [J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2006(3): 25 - 28.
- [9] 于汉寿, 吴汉章, 杨冰. 壳聚糖抑制植物病害的研究进展 [J]. *天然产物*

- 研究与开发, 1999, 12(3): 94 - 97.
- [10] 黎军英, 李红叶. 壳聚糖对桃褐腐病菌的抑菌作用 [J]. *电子显微学报*, 2002, 21(2): 138 - 140.
- [11] 陈云, 梁建生, 刘立军, 等. 低聚壳聚糖对小麦种子萌发以及幼苗生理生化特性的影响 [J]. *耕作与栽培*, 2003(3): 28 - 29
- [12] 刘楠. 壳聚糖抑菌活性研究及其对冬枣部分生理指标的影响 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [13] 佚名. 作物广谱“疫苗”——甲壳素 [J]. *山东农药信息*, 2005(11): 17.