

文章编号: 1000-5471(2007)03-0080-05

纳米硅对三峡库区柑橘青霉菌的药效试验^①

甘丽萍, 李彦杰, 杨波, 杨容

重庆三峡学院 生物系, 重庆 万州 404000

摘要: 对三峡库区柑橘果实贮藏期间携带微生物进行了分离, 青霉菌(Penicillium)为主要的致病菌; 不同药剂处理接种青霉菌的柑橘果实, 实验表明多菌灵抑菌效果最好, 防效达到 65.4%, 其次是纳米硅达到 53.4%; 对青霉菌的抑菌圈试验表明, 多菌灵抑制效果最好, 抑制率为 90%, 纳米硅为 88%. 说明纳米硅对柑橘青霉病有一定的防治效果, 并因其无公害有施用价值.

关键词: 纳米硅; 三峡库区; 柑橘; 贮藏期病

中图分类号: S666.2

文献标识码: A

三峡库区属典型亚热带季风湿润气候, 是我国乃至世界柑橘的最适宜生态区之一^[1]. 柑橘果实在贮藏期间常发生青霉病、绿霉病、酸腐病、软腐病、蒂腐病等多种侵染性病害^[2], 病原菌大多为弱寄生真菌, 一般烂果率为 10%~30%, 严重时可达 60%以上. 20 世纪 60 年代以后多采用杀菌剂如苯菌灵、百菌清、菌毒清、富马酸二甲酯(DMF)^[3]、2,4-D^[4]等防治贮藏期间病害. 但随着病原菌抗药性问题、农药残留和有害重金属超标^[5]以及人们对绿色食品的青睐, 寻找新的药剂已是大势所趋.

现有各种保鲜剂、打蜡技术以及生防菌的应用在很大程度上为柑橘贮藏提供了有力的保障, 但寻找一种简便的在大田容易推广的保鲜材料是一个新的要求. 纳米材料是 20 世纪 80 年代发展起来的新材料, 对粮食作物以及部分水果病害的作用效果都已相继证实, 其中纳米硅对稻瘟病菌^[6]、白粉菌^[7]、葡萄采后病害^[8]等的防治效果都已见成功报道. 但对柑橘贮藏期间病害的防效还鲜有研究. 本试验选用纳米二氧化硅和纳米锌应用于柑橘贮藏期间病害的防治, 并与传统的化学农药做对比, 以确定纳米材料的防治效果.

1 材料与方法

1.1 供试材料与药剂

采用红橘成熟果实为研究对象, 红橘(*Citrus reticulata* Blanco)产于四川的称川橘, 芸香科(Rutaceae)、柑橘属(*Citrus* Linn)、宽皮橘的栽培品种. 贮藏用果于 2005 年 12 月 4 日和 2006 年 1 月 8 日分 2 次采摘于万州区太龙柑橘果园, 采摘、运输、贮藏条件一致.

供试药剂: 纳米二氧化硅(SiO₂)和氧化锌(ZnO)(平均粒度 20±5 nm)由山西长治天乙纳米材料有限公司生产; 50%多菌灵(俗称多菌灵, 有效成分: 苯并咪唑-2-基氨基甲酸甲酯)超微可湿性粉剂由河北冠龙峰圣农药联合公司生产; 70%甲基托布津(甲、硫、福超微可湿性粉剂)由江苏永联集团公司江阴农药厂生产.

① 收稿日期: 2006-07-27

作者简介: 甘丽萍(1979-), 女, 甘肃张掖人, 讲师, 主要研究植物病理与生理.

1.2 柑橘果实携带微生物分离

从太龙柑橘园采摘成熟橘果,供试橘果分别进行如下处理:一是用10mL无菌水洗涤,分取洗涤液1mL接种于PDA培养基;另一种处理选取果梗、果皮多处约1cm²大小的组织块同样接种于PDA培养基上.置于28±1℃的培养箱中培养,5~7d后观察培养结果,对细菌只观察菌落形态和种类数目,不做具体鉴定,对真菌菌落进行分离、纯化并通过柯赫氏法则^[9]鉴定病原.

1.3 不同药剂对柑橘果实贮藏期青霉病的药效试验

1.3.1 供试菌种与药液

将纯化后的青霉菌(*Penicillium italicum*)用无菌水配成孢子悬浮液,以低倍光学显微镜下一个视野150~200个孢子为准.

供试药剂浓度:纳米硅和纳米锌为1.7mM;50%多菌灵可湿性粉剂800倍液;70%甲基托布津可湿性粉剂1000倍液;CK无菌水.

1.3.2 实验方法

选取大小、色泽一致的柑橘,用清水洗净果实表面后再用0.525%次氯酸钠消毒.用2种处理方法,一种是待果实风干后,将消毒的针在青霉菌孢子悬浮液中浸泡3秒后在果实上人工接种,每果实接种10针,接种深度基本一致,以刺破表皮为宜,接种处理24h后,在配好的药剂中浸果2~3min;另外一种处理方法是接种,直接在药剂中浸泡2~3min.在浸果时用玻璃棒搅拌,以克服药剂沉淀.每处理平均2次(表2重复次数中1、2为第1种处理方法,3为第2种处理方法).风干套袋,在常温下分别于15d,30d,50d调查发病率.

病果分级按以下分级标准^[9]:

0级:无病;

1级:病害面积占整个柑橘1/4以下;

2级:病害面积占整个柑橘1/4~1/2;

3级:病害面积占整个柑橘1/2~3/4;

4级:病害面积占整个柑橘3/4以上.

防治效果和病情指数计算方法如下:

$$\text{防治效率} = \frac{\text{对照组病情指数} - \text{防治组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100\%$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{调查各级病果数} \times \text{该病果的级数})}{\text{调查总数} \times \text{最高级数}} \times 100\%$$

1.4 不同药剂对青霉菌的抑制效果

供试菌种和供试药剂浓度同1.3.1,将配好的药剂各1mL分别加入培养皿,再将PDA培养基(60℃)倒入,混合均匀,待凝固后将已纯化好的直径为3mm的青霉菌菌块,接种到培养基上,每皿4块,5d后测量菌落大小,计算抑制率.

2 试验结果及分析

2.1 三峡柑橘携带微生物的种类

通过对红橘果梗、果皮的分离培养及洗涤液培养,分离出红橘携带微生物的几种细菌,由于它们不是致病菌,均未做具体鉴定.通过柯赫氏法则的4条标准得到的致病真菌主要是意大利青霉(*Penicillium italicum* Wehmer)和指状青霉(*Penicillium digitatum* Sacc.),均属半知菌亚门、青霉属(*Penicillium*),分别引起了柑橘的青霉病和绿霉病.

2.2 柑橘果实贮藏期病害的药效试验

橘果接种病原菌后,清水对照的橘果感病率较高,各药剂处理均不同程度抑制病原菌的侵染,其中多

菌灵的效果最好, 防效达到 65.4%, 其次是纳米二氧化硅, 达到 53.4%, 纳米二氧化硅+纳米锌混合使用达到 41.0%, 增效作用不明显, 反而有一定程度的降低. 从多重比较结果来看多菌灵、纳米二氧化硅和纳米二氧化硅+纳米锌之间有差别, 与对照、甲基托布津和纳米锌相比达到了显著(表 1).

表 1 供试药剂防治橘果贮藏期病害试验结果

药剂名称	重复次数	实验果数	储藏期间各级果数															病情指数	防治效果	多重比较
			15 d					30 d					50 d							
			0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4			
清水 CK	1	60	35	10	9	6	0	28	14	10	6	3	18	18	16	6	0	0.74	0	A
	2	49	30	11	6	3	0	23	11	8	5	2	10	16	16	4	3	0.79		
	3	50	7	20	7	8	8	5	20	10	11	4	0	2	19	20	9	1.58		
	平均																	1.03		
甲基 托布津	1	60	38	15	7	0	0	31	18	6	4	1	24	18	12	4	2	0.57	7.18%	A
	2	52	30	12	8	2	0	22	17	8	3	2	12	18	10	8	4	0.78		
	3	50	9	23	5	8	5	5	18	13	12	2	2	5	8	20	15	1.53		
	平均																	0.96		
纳米锌	1	61	42	15	4	0	0	24	18	12	2	0	16	15	22	6	2	0.64	9.76%	A
	2	50	34	10	5	1	0	24	10	12	3	1	19	16	10	3	2	0.62		
	3	50	11	25	3	6	5	5	16	15	12	2	1	4	6	22	17	1.55		
	平均																	0.93		
纳米硅 + 纳米锌	1	62	57	1	4	0	0	45	10	5	2	0	38	16	5	3	0	0.28	41.0%	B
	2	52	45	5	2	0	0	40	6	5	1	0	32	10	7	2	1	0.30		
	3	51	20	14	8	6	3	12	24	14	8	5	5	15	15	10	6	1.25		
	平均																	0.61		
纳米硅	1	62	58	3	1	0	0	41	12	4	5	0	32	18	6	6	0	0.28	53.4%	C
	2	50	47	2	1	0	0	40	8	2	0	0	31	12	5	2	0	0.18		
	3	51	18	20	6	6	1	10	25	9	9	3	6	16	10	11	2	0.93		
	平均																	0.46		
多菌灵	1	61	60	1	0	0	0	52	5	4	0	0	36	18	6	1	0	0.19	65.4%	D
	2	51	47	3	1	0	0	45	4	2	0	0	38	9	4	0	0	0.15		
	3	50	26	18	4	2	0	18	20	7	4	1	11	22	10	5	2	0.74		
	平均																	0.34		

2.3 不同药剂对青霉菌的抑制效果

从抑菌圈结果来看(图 1), 各药剂对青霉菌都有一定的抑制作用, 抑制率在 65% 以上. 其中以 800 倍液多菌灵抑制效果最好, 病斑直径为 0.31 cm, 抑制率达到了 90%, 接种的菌落没有扩张, 基本上将病菌全部致死; 纳米硅效果也比较明显, 病斑直径为 0.35 cm, 抑制率为 88%, 多重比较的结果说明纳米硅和多菌灵之间的差异不显著, 与对照以及甲基托布津、纳米锌对比达到了显著. 这与前面供试药剂防治橘果贮藏期病害试验结果基本一致(表 2).

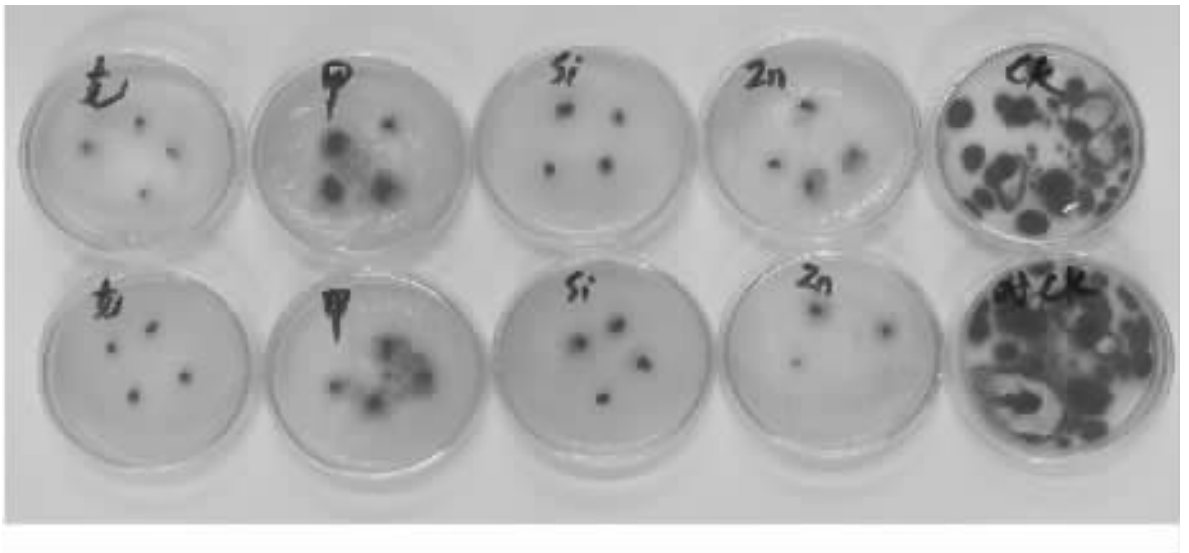
表 2 供试药剂对青霉菌抑制试验结果

药剂名称	药剂浓度	菌落直径/cm	多重比较	抑制率
CK	无菌水	3.04	A	0
甲基拖布津	1 000 倍液	1.07	B	65%
纳米锌	1.7 mM	0.97	C	68%
纳米硅	1.7 mM	0.35	D	88%
多菌灵	800 倍液	0.31	D	90%

对以上 2 组实验数据进行分析, 分别以病情指数和抑菌圈直径为指标进行方差分析, 可见区组之间防治效果差异不显著, 药剂之间防治效果差异显著(表 3).

表3 柑橘贮藏期病害防治试验的方差分析

变源	自由度	以病情指数为指标			以抑菌圈直径为指标		
		SS	MS	F	SS	MS	F
区组	9	1.082	0.216	0.898	19.058	3.812	337.639
药剂	5	10.065	10.065	47.758**	22.200	22.200	1966.536**
误差	45	2.892	0.241		0.135	1.129 e-02	
总变异	59	14.093			41.393		



(克: 多菌灵; 甲: 甲基托布津; Si: 纳米硅; Zn: 纳米锌; CK: 对照)

图1 不同药剂对青霉菌的抑制效果

3 讨论

纳米硅对青霉菌有明显抑制效果, 防效接近多菌灵等农药, 由于其对人体安全无毒, 是一种很有前途的新型保鲜剂. 硅的作用机理已有学者研究报道, 如加硅可使植物细胞中的酚类物质积累, 产生一些抗菌物质, 提高植物对病害的抵抗作用^[10-11]. 对硅在柑橘贮藏期间病害中的施用浓度和作用机理需要进一步探讨, 同时本研究目前尚处在小批量的试验阶段, 大批量贮藏推广还有待于进一步的试验和研究.

参考文献:

- [1] 李振轮, 谢德体. 重庆市柑橘业现状、挑战、机遇和对策[J]. 西南农业大学学报, 2005, 3(2): 13-15.
- [2] 李俊凯, 江定心, 郭敦成, 等. 灭菌促长剂防治柑橘贮藏期病害的药效试验[J]. 湖南化工, 2000, 30(5): 44-45.
- [3] 林亲录, 金阳海, 秦丹, 等. 富马酸二甲酯(DMF)在柑橘贮藏中的应用[J]. 食品工业科技, 2002, 23(1): 63-65.
- [4] 庄荣玉. 菌毒清与2,4-D混用对温州蜜柑保鲜贮藏的研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 12(12): 25-26.
- [5] 李峦松, 熊晓山, 夏仁学. 三峡库区柑橘产业发展的科技问题研究[J]. 西南农业大学学报(社会科学版), 2005, (6): 11-13.
- [6] Fabricio A R, Francisco X R V, Lawrence E D. Effect of rice growth stage and silicon on sheath blight development[J]. Phytopathology J., 2003, 93(3): 256-261.
- [7] 刘彩云. 不同硅源制剂对小麦白粉病的作用效果及机理研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2002.
- [8] 徐红霞. 不同硅源制剂对葡萄采后主要病害的作用效果及其机理的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2004.

- [9] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [10] Belanger R R, Nicole B, Menzie J G. Cytological Evidence of an Active Role of in wheat Resistance to Powdery Mildew [J]. *Phytopathology*, 2003, 93(4): 402 – 412.
- [11] 梁永超, 孙万春. 硅和诱导接种对黄瓜炭疽病的抗性研究[J]. *中国农业科学*, 2002, (3): 267 – 271.

Control Tests of Nanometer SiO₂ against Citrus Penicillium in Reservoir Region of Three Gorges

GAN Li-ping, LI Yan-jie, YANG Bo, YANG Rong

Biology Department, Chongqing Three Gorges College, Wanzhou Chongqing 404000, China

Abstract: The microbes were isolated from the storage orange in reservoir region of Three Gorges, penicillium is the important pathogenic fungi; control effect of different pesticides were compared using artificial inoculation to orange by Penicillium, the results showed that carbendazim has the highest inhibition, reaching 65.4%, followed by the nanometer SiO₂, at 53.4%; The results of controlling germ falls to penicillium showed carbendazim had highest inhibition, nanometer SiO₂ ranked the second, the inhibition rate is 90% and 88% respectively. It indicated nanometer SiO₂ has strong activity against penicillium and has the potential application value because of being a green pesticide.

Key words: nanometer SiO₂; Reservoir Region of Three Gorges; orange; disease in storage

责任编辑 夏娟