

文章编号: 1001-1498(2006)05-0629-04

水杨酸诱导油茶抗炭疽病的研究

王 军, 陈绍红, 黄永芳, 孙 思

(华南农业大学林学院, 广东 广州 510642)

摘要:应用水杨酸溶液喷洒油茶叶片可有效诱导植株产生对炭疽病的局部性和系统性抗性。浓度 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 诱导抗性效果最好, 其对嫩叶的局部诱导病斑减小率为 54.15%, 对老叶的病斑减小率为 61.55%。该浓度的水杨酸溶液喷洒对油茶炭疽病的系统性诱导抗性可使病斑减小率达 46.7%; 田间试验防治效果达到 45.32%。水杨酸诱导油茶产生的局部性抗性可持续 20 d 而抗性水平无明显下降。扫描电镜显示在诱导处理的油茶叶片上, 分生孢子能够萌发, 但是芽管的生长受抑制, 甚至异常变形卷曲。

关键词:水杨酸; 油茶; 炭疽菌; 诱导抗性

中图分类号: S763.7

文献标识码: A

Induced Resistance to Anthracnose of *Camellia oleifera* by Salicylic Acid

WANG Jun, CHEN Shao-hong, HUANG Yong-fang, SUN Si

(College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China)

Abstract: Local and systemic resistance to anthracnose of *Camellia oleifera* was induced when the plant was sprayed by salicylic acid solutions. The inducing effect was the strongest when the concentration of salicylic acid was $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, exhibiting 54.15% and 61.55% anthracnose inhibition rates on younger and elder leaves respectively by local induction, and up to 46.7% inhibition rate by systemic induction. The maximum control rate of 45.32% was also attained in field experiment. The level of local induced resistance by salicylic acid had maintained 20 d without declining evidently. Under scanning electron microscope, the conidia germinated, but the growth of germ tubes was inhibited, and even malformed or twisted.

Key words: salicylic acid; *Camellia oleifera*; *Colletotrichum gloeosporioides*; induced resistance

油茶 (*Camellia oleifera* Abel) 是我国南方重要的木本油料树种, 栽培历史悠久, 分布区域广泛。但病虫害一直是油茶生产中的一个主要问题。由胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* (Peng) Sacc) 引起的油茶炭疽病是油茶产区最主要的病害之一, 在我国凡有油茶栽培的地方都有其危害。在油茶炭疽病的控制上以往多用化学防治^[1,2]。然而在日益强调环境保护的今天, 寻找其它有效并对环

境友好的防治方法就显得更为迫切。诱导抗性是近年来植物病害防治研究中的一个热点, 已有报道表明水杨酸能够诱导一些木本植物如芒果 (*Mangifera indica* L) 和马尾松 (*Pinus massoniana* Lamb) 等^[3,4] 产生较强的抗病性。但在油茶炭疽病上还未见有类似研究, 本文是对油茶经水杨酸处理后产生对炭疽病诱导抗性情况的一个初步报道。

收稿日期: 2004-10-15

基金项目: 广东省科技厅农业攻关 (2002C2010603) “油茶高效优质丰产栽培技术研究” 的部分内容

作者简介: 王 军 (1962—), 男, 四川都江堰人, 教授, 博士。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试菌种为华南农业大学林学院森保室保存菌种,原从广东省河源市龙川县感病油茶叶片分离。用于接种的油茶材料从华南农业大学油茶林及板栗 (*Castanea mollissima* Blume) 园获得。供试水杨酸 (分析纯) 由天津市化学试剂一厂出品。

1.2 局部诱导抗病性测定

1.2.1 诱导浓度确定 将水杨酸用蒸馏水配制成 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 个质量浓度,然后分别将药液喷到 2 年生的油茶苗上,到叶片上有水滴下为止,2 d 之后再重复喷洒一次药液,5 d 以后从油茶植株上分别采集喷过药液刚完全展开的黄绿色嫩叶和已呈墨绿色的老叶叶片进行刺伤接种,蒸馏水作对照,每个处理 12 个重复,接种后放入培养皿中在 28℃ 条件下进行恒温保湿培养,4 d 后观察结果。诱导效果用病斑减小率来衡量并按以下公式进行计算:

病斑减小率 = $\frac{\text{对照处理病斑面积} - \text{诱导处理病斑面积}}{\text{对照处理病斑面积}} \times 100\%$

1.2.2 诱导抗性的持续性测定 将上述各浓度水杨酸药液喷到油茶叶片上,2 d 之后再喷 1 次,之后每隔 5 d 便从油茶植株上采下叶片作刺伤接种,蒸馏水作对照,每处理 12 个重复,接种后放入培养皿中在 28℃ 条件下恒温保湿培养,4 d 后观察结果,试验时间持续 1 个月。

1.3 系统诱导抗性测定

选择 1.2.1 中水杨酸诱导效果最好的溶液浓度,对 2 年生油茶苗进行两种方式喷洒,一种是只对油茶植株上半部的叶片进行喷洒;另一种是只对油茶植株下半部的叶片进行喷洒,2 d 之后再重复喷洒一次;2 d 之后再从油茶植株上分别采集上部或下部未喷过水杨酸的叶片进行接种试验,蒸馏水作为对照,每个处理 12 个重复,接种后放入培养皿中在 28℃ 条件下进行恒温保湿培养,4 d 后观察结果。

1.4 田间诱导抗性防治试验

采用 1.2.1 中通过诱导效果测试较好的水杨酸浓度,于 2004 年 4 月上旬在龙川县再乐村油茶林中选定生长状况一致的油茶植株洒水杨酸水溶液,每浓度处理 50 株,用清水作对照。20 d 之后统计各病级株数并计算病情指数。病情指数分级标准如下:

病级	发病程度	代表数值
0 级	整株油茶叶片上没有病斑出现	0
1 级	发病叶片数小于整株新叶片数 1/4	1
2 级	发病叶片数占整株新叶片数的 1/4 ~ 1/2	2
3 级	发病叶片数占整株新叶片数的 1/2 ~ 3/4	3
4 级	发病叶片数占整株新叶片数大于 3/4	4

防治效果按下列公式计算:

防治效果 = $\frac{\text{对照组病情指数} - \text{施药组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100\%$

1.5 诱导处理叶片上病菌分生孢子萌发及侵入情况

对 2 年生油茶离体叶片进行水杨酸溶液喷洒,浓度为 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,蒸馏水喷洒做对照。2 d 之后用分生孢子悬浮液对油茶叶片进行无伤接种,28℃ 下保湿培养。24 h 后分别对诱导处理叶片和对照叶片进行取样 (2 mm × 4 mm),每种样品取 3 块;36 h 后再一次取样。

将样品迅速放入 4% 的戊二醛溶液中,然后放入 4℃ 的冰箱内保存,保存时间至少 2 h。

用滴管吸出戊二醛固定液,然后在每个样品加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液,静置 10 min 后更换新的磷酸缓冲液,重复 3 次。在经过浸洗后的样品中加入 1% 的钨酸,之后放入 4℃ 的冰箱中静置 2 h,然后吸出 1% 钨酸,再加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液浸洗,每次 10 min,连续浸洗 3 次。在经后固定的每个样品中分别依次加入浓度为 50%、70%、80%、90% 和 100% 的乙醇逐级脱水,每级静置 10 min。用醋酸正戊酯对样品进行过渡,处理 2 次,每次 15 min。临界点干燥 2 h 后进行样品装台,将装上样品的样品台用 HUS-5GB 真空镀膜仪进行导电处理,置于扫描电镜下观察。

2 结果与分析

2.1 诱导浓度

从水杨酸 4 种浓度对油茶嫩叶的诱导处理效果 (表 1) 看, $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 所产生的局部诱导抗病效果最好,嫩叶上的病斑减小率达到了 54.15%,其次是 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,防治效果为 45.85%;相同溶液浓度对老叶的诱导抗性效果比嫩叶更强,其中诱导效果最好的处

理浓度也是 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 达到了 61.55%, 其次也是 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 病斑减小率为 49.46%。方差分析结果显示嫩叶和老叶以及 4 种处理浓度之间所产生的诱导效果都存在着极显著差异 ($P < 0.01$)。

表 1 水杨酸 4 种浓度对油茶抗炭疽病的局部诱导抗效果

处理浓度 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	嫩叶		老叶	
	病斑面 积 / cm^2	病斑减 小率 /%	病斑面 积 / cm^2	病斑减 小率 /%
200	0.333	39.89	0.306	43.32
150	0.254	54.15	0.208	61.55
100	0.300	45.85	0.273	49.46
50	0.333	39.89	0.302	44.04
(对照)	0.554		0.540	

2.2 诱导抗性的持续性

在 4 种浓度对油茶叶片诱导处理后的 6 个时间间隔上测定局部诱导抗性, 可见诱导效果 (表 2) 在 20 d 内都维持较高水平, 之后慢慢减弱, 但在 30 d 后, 诱导防治效果最高仍可达 41.70%。方差分析显示各时间点的诱导抗性效果之间存在着极显著差异 ($P < 0.01$)。

表 2 水杨酸处理后不同时间接种产生的局部诱导抗性

处理浓度 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	病斑减小率 /%				
	200	150	100	50	
观察时间 / d	5	39.89	54.15	45.85	39.89
	10	39.96	54.50	46.12	39.92
	15	39.60	54.00	48.00	40.33
	20	38.70	53.70	47.81	40.70
	25	35.20	45.30	43.70	37.80
	30	33.70	41.70	36.60	35.30

2.3 诱导抗病的系统性

用 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为处理浓度仅对油茶下部叶片喷洒, 而对上部叶片接种所得到的平均病斑面积为 0.295 cm^2 , 防效为 46.7%; 仅对上部叶片喷洒, 而对下部叶片接种的病斑平均面积为 0.306 cm^2 , 防效为 44.8%; 对照病斑平均面积为 0.553 cm^2 。结果表明, 两种处理方法都能诱导未受水杨酸处理的油茶叶片产生对炭疽病的抗性。说明由水杨酸处理油茶所产生的抗病信号可以从下往上或从上往下进行双向传导, 引起系统性诱导抗性。

2.4 田间防治试验结果

通过室内诱抗试验, 选用 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三种处理浓度, 测试它们在田

间的诱导抗性防治效果 (表 3)。三种浓度处理田间防治效果最好的还是 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 防效为 45.32%, 其次是 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 防效为 31.06%。方差分析显示三种处理浓度之间的大田诱导抗性效果有极显著差异 ($P < 0.01$)。

表 3 田间诱导抗性防治效果

处理浓度 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	病情指数	防治效果 /%
150	13.3	45.32
100	16.8	31.06
50	18.7	23.10
(对照)	24.3	

2.5 诱导处理叶片上病菌分生孢子萌发及侵入情况

扫描电镜照片显示经诱导处理和对照叶片在油茶叶片上分生孢子萌发和入侵情况 (图 1)。叶片在被处理后 24 h 和 36 h, 其上的分生孢子萌发都受到了不同程度的抑制。

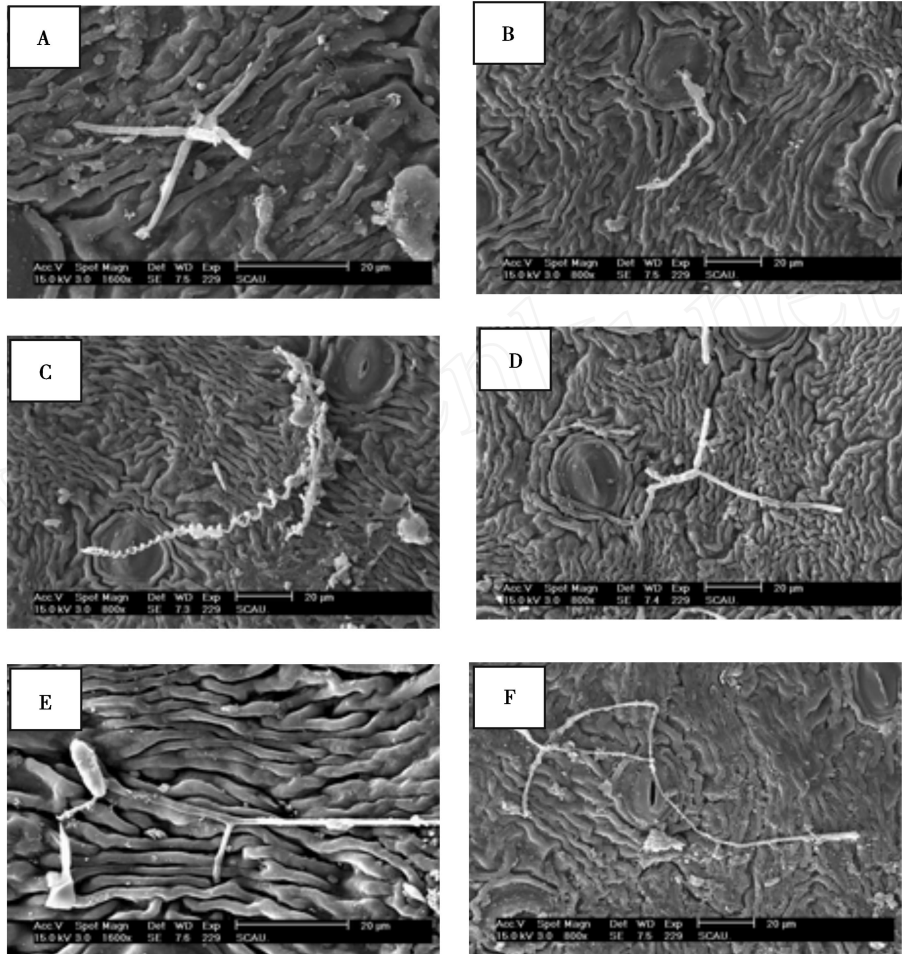
3 结论与讨论

水杨酸作为一种广泛存在于植物体内的酚类物质, 与植物的抗病性密切相关。已有的研究表明外源水杨酸作为一种诱导剂能诱导包括林木在内的许多植物产生对病害的抗性^[5,6]。从本试验结果看, 经局部诱导处理的叶片表面上, 病菌分生孢子虽能够萌发产生芽管, 但芽管的生长受到抑制, 有的芽管产生变形和扭曲; 另外, 经诱导处理的叶片上分生孢子基本没有直接侵入的现象。这些现象可能属于诱导抗性在形态学上的机制, 但也不排除是残留叶片上水杨酸的影响。不过本试验中最高浓度的水杨酸并未产生最强的诱导抗性, 因此, 可以认为局部诱导抗性的产生基本上并不是水杨酸本身对病原菌分生孢子入侵的影响。

本试验应用外源水杨酸处理油茶叶片诱导油茶叶片增加了对炭疽病的局部抗性。其中, 浓度 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 诱导效果最好, 病斑减小率最多, 可达 61.55%, 其次是 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 病斑减小率为 49.46%。另外, 由于分别处理油茶植株上下部叶片, 都能诱导出未经处理部分增强抗病性, 说明水杨酸也能在油茶上诱导出系统抗性, 而且诱导信号可进行双向传导。由水杨酸诱导油茶产生的对炭疽病的局部性诱导抗性在 20 d 内效果都维持在一定水平, 而在 25 d 后, 抗性才开始逐渐下降。这些特性, 连同田间试验 45.32% 的防治效果, 表明用喷洒水

杨酸诱导油茶产生对炭疽病的抗性的防治方法具有潜在的应用前景,随着研究的深入,应用水杨酸代替

化学杀菌剂防治油茶炭疽病将会是一种可以考虑的选择。



A: 24 h后诱导处理叶片上分生孢子萌发产生芽管,但生长受到抑制;B: 24 h后诱导处理叶片上分生孢子萌发产生的芽管侵入气孔,但芽管扭曲变形;C: 36 h后诱导处理叶片上分生孢子萌发产生的芽管异常卷曲如弹簧状;D: 36 h后诱导处理叶片上分生孢子萌发产生芽管,但芽管生长受到抑制;E: 24 h后对照处理叶片上分生孢子正常发芽,有芽管从叶表皮侵入;F: 36 h后对照处理叶片上分生孢子萌发产生芽管从气孔开口侧经过。

图 1 分生孢子在诱导处理和对照叶片上的萌发情况

参考文献:

- [1] 李春平,李清华,钟伟. 油茶常见病害的发生与防治 [J]. 安徽农业科学, 2003, 31(6): 1061
- [2] 黄新华. 百菌清等 3种药剂防治油茶炭疽病药效试验 [J]. 江西林业科技, 2000, 2: 18 ~ 19
- [3] 柳建良,黄小丹,傅焯栋,等. 水杨酸对芒果的诱导抗性作用 [J]. 热带亚热带植物学报, 1998, 6(3): 245 ~ 248
- [4] 万贤崇,沈伯葵. 松梢枯病防治新技术及其机理研究 [J]. 南京林业大学学报, 1998, 22(1): 13 ~ 16
- [5] 王军. 植物诱导抗病性的进展 [J]. 华南农业大学学报, 1994, 15(4): 121 ~ 126
- [6] 洪剑明,邱泽生,柴晓清. 植物的诱导抗病性 [J]. 植物学通报, 1997, 14(2): 23 ~ 29