

# 壳聚糖对植物病原微生物抑制作用

陈 彧, 周国英, 刘君昂

(中南林业科技大学资源与环境学院, 湖南长沙 410004)

**摘要:** 壳聚糖作为一种性能优良的可生物降解的高分子材料, 在医药、农业方面显示其特异功能, 有着广阔的应用前景。尤其是壳聚糖对病原真菌、细菌、病毒、类病毒都具抑制作用, 但是在壳聚糖的抑菌机理和抑菌特性方面, 不同的研究者得出的结论却不尽相同。

**关键词:** 壳聚糖; 病原菌; 抑制作用; 机理

中图分类号: Q53      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2009)01-0007-03

## Antimicrobial Activity of Chitosan for Plant Pathogenic Microbes

CHEN Yu, ZHOU Guo-ying, LIU Jun-ang

(Resource and Environment College of Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004)

**Abstract:** Chitosan as a good performance of biodegradable polymer materials showing its specific functions in medicine and agriculture has broad application prospects. The antimicrobial activity of chitosan for phytopathogenic fungi, bacteria virus and so on were reviewed, and the advances of chitosan were discussed, but different researchers have come to the conclusion differently.

**Key words:** chitosan; phytopathogenic; antimicrobial activity; mechanism

壳聚糖(Chitosan), 又名聚氨基葡萄糖, 可溶性甲壳素或脱乙酰甲壳素, 是甲壳素(Chitin)乙酰基转化而成的产物<sup>[1-3]</sup>。甲壳素又称几丁质或甲壳质<sup>[4]</sup>, 甲壳质是一种天然多糖类高分子化合物, 在自然界中分布甚广, 主要存在于虾、蟹等甲壳动物的外壳, 蟑螂、蚕(蛹)等昆虫的表皮, 以及蘑菇等菌类的细胞壁中。

有关壳聚糖及其衍生物抑菌特性的报道最早见于1979, Allan等<sup>[5]</sup>发现壳聚糖有广谱抑菌性。近年来, 壳聚糖及其降解产物已被应用于各个领域, 尤其是在抗菌、抑菌方面, 其中有关壳聚糖及其衍生物抗菌性能的报道较多<sup>[6-8]</sup>, 认为壳聚糖不仅具有天然抗菌性能, 而且抗菌谱广。壳聚糖能够有效地抑制细菌和真菌的生长和繁殖, 与一般抑制剂相比, 它具有高活性、广谱性、高效性等优点, 在抑制植物病原菌的方面效果显著。我国海岸线长, 甲壳资源丰富, 加强对其衍生物的研究开发, 变废为宝, 可以带来巨大的经济效益、社会效益和生态效益。

### 1 壳聚糖对植物病原微生物的抑制作用

由于壳聚糖能阻止植物病原菌细胞的发育生长, 诱导宿主植物对病原菌产生防护机制, 因而能够减少病原菌对植物的危害。

#### 1.1 对病原真菌的抑制作用

喻大昭、扬小军等<sup>[9]</sup>, 研究了低壳聚糖对小麦白粉病菌(*Erysiphe graminis*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)的影响, 室内测定结果表明: 低壳聚糖对小麦和水稻纹枯病的抑制率分别达到91.5%和100%; 对小麦白粉病有一定的诱导抗病作用。田间实验表明, 在病害发生早期喷施一定浓度低聚糖水溶液可以有效控制水稻纹枯病的发生。

Nicole等<sup>[10]</sup>用 $1\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的壳聚糖浸泡番茄根可防治由镰刀菌(*Fusarium oxysporum f. sp. radicle-lycopersici*)所引起的番茄茎腐病, 抑制率为70%。廖春燕、马国瑞等<sup>[11]</sup>研究了壳聚糖对番茄枯萎病菌(*F. oxysporum f. sp. Lycopersici*)菌丝生长和孢子萌发的抑制作用。结果表明, 浓度大于 $1\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的壳聚糖能明显抑制菌丝生长, 各设定浓度均可在一定程度上抑制孢子萌发, 而且抑制效果随着处理浓度的增大而增强; 浓度大于 $0.1\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的壳聚糖处理可诱导初生菌丝发生肿胀、分枝增多且菌体分隔增加及体细胞变

收稿日期: 2008-08-02

基金项目: 国家“十一五”林业科技支撑项目(2006BAD08A1104); 国家林业局重点项目(2006-47); 国家林业局重点项目(2007-07)

第一作者简介: 陈彧(1984-), 男, 江西吉安人, 在读硕士研究生, 从事森林微生物研究。Tel: 13875887512, 0731-5623296; E-mail: cfstuchen@126.com。

短等形态学变化。

董秋洪、张样喜<sup>[12]</sup>用平板抑菌法测定了壳聚糖对辣椒疫霉病菌和水稻恶苗病菌的抑制作用。结果表明,壳聚糖稀释250~500倍对辣椒疫霉病菌菌丝的抑制效果达59.1%~91.7%,而对水稻恶苗病菌菌丝的抑制效果达14.6%~68.4%。其中,壳聚糖稀释250倍液对辣椒疫霉病菌菌丝的抑制效果最为明显,达到91.7%,优于25%施宝克稀释液对比药剂的抑制效果。

覃彩芹、龙晶等<sup>[13]</sup>采用平板法研究了壳聚糖系列样品对大叶黄杨炭疽病、沿阶草炭疽病、广玉兰炭疽病(*Colletotrichum gloeosporioides*)和对节白蜡腐烂病(*Valsa* sp.)等庭园植物病原真菌的体外抗菌性能。结果表明:水不溶性壳聚糖酸溶液均表现出抑菌活性,且随着浓度的增大而抑菌活性增强;中等分子量( $7.8 \times 10^4$ )壳聚糖比大分子量( $3.8 \times 10^5$ )壳聚糖和低分子量( $1.7 \times 10^4$ ,  $2.3 \times 10^3$ )壳聚糖抗菌作用强。

钟秋平、夏文水等<sup>[14]</sup>以芒果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、芒果褐色蒂腐病菌(*Phomopsis mangiferae*)、芒果球二孢霉蒂腐病菌(*Botryodiplodia theobromae* Pat.)、芒果小穴壳蒂腐病菌(*Dothiorella Dominicana*)为实验菌株,研究了不同pH、酸溶剂的种类对壳聚糖抗菌活性及其抗菌稳定性的影响。结果表明:壳聚糖的抑菌率随着壳聚糖浓度的提高而提高;在pH4.8和pH6.0的环境中,壳聚糖的抗菌能力较强;壳聚糖的乳酸溶液对芒果蒂腐病菌有很强的抑制力;壳聚糖连续刺激诱导40代后,芒果炭疽病菌、蒂腐病菌的 $EC_{50}$ 值均有所提高,其中以芒果球二孢霉蒂腐病菌和芒果褐色蒂腐病菌变化最显著,说明壳聚糖对其抗菌稳定性最差。

李美芹、肖慧等<sup>[15]</sup>以番茄叶霉病菌为实验菌种,用含毒介质法系统研究了壳聚糖的脱乙酰度、分子量、浓度、环境pH及溶剂等因素对壳聚糖抑菌活性的影响。结果表明,壳聚糖对番茄叶霉病菌具有明显抑制作用;在研究范围内,随浓度的增加和环境pH降低,抑菌活性增强;较理想的溶剂是乳酸和醋酸;脱乙酰度为86%、分子量为 $213 \times 10^3$ 的壳聚糖抑菌效果较好;0.2%的壳聚糖与三唑酮等农药抑菌效果相同。

## 1.2 壳聚糖对病原细菌的抑制作用

Struszczyk和Pospieszny等<sup>[16]</sup>用最小抑制浓度(MIC)的方法,研究甲壳素和壳聚糖对密执安棍状杆菌密执安亚种(*Clavibacter michigense* subsp. *Michiganense*)、密执安棍状杆菌诡谲亚种(*Clavibacter michigense* subsp. *Indiosum*)、野油菜黄单胞菌天竺致病变种(*Xanthomonas campestris* pv. *Pelargonii*)、丁香假单胞菌、番茄致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)、根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)及大肠杆菌(*Escherichia coli*)等多种细菌作用的结果表明:壳聚糖在0.01%~0.3%浓度范围,可抑制除大肠杆菌外的其他几种细菌的生长。Jeon<sup>[17]</sup>等作了不同分子量的壳

低聚糖对细菌的抑制作用研究,发现壳低聚糖的抑菌作用与其分子量的大小关系十分密切,只有分子量接近或大于10 kD的壳低聚糖对细菌生长才可有效的抑制。

马鹏鹏和何立干等<sup>[18]</sup>,通过测定最小抑菌浓度和相对抑制率,研究了分子量和脱乙酰度对壳聚糖抑制胡萝卜软腐欧文菌(*Erwinia carotovora* Var. *carotovora*)、油菜黄单胞菌绒毛草致病菌(*Xanthomonas campestris* Pv. *holciola*)等作用的影响。结果表明:在一定范围内,随分子量和脱乙酰度的增大,壳聚糖的抑菌效果相应降低,各种病原菌细菌对不同壳聚糖的敏感性也有很大的差异。

吴小勇、曾庆孝等<sup>[19]</sup>,比较了相同脱乙酰度不同分子量,以及分子量相近、脱乙酰度不同的壳聚糖对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌和假单胞菌的抑菌作用。结果表明,实验中用到的壳聚糖都对金黄色葡萄球菌有很强的抑菌作用(抑菌率接近100%,最低抑菌浓度为0.03%);对于其他3种细菌,脱乙酰度相同(75.3%或93.7%),粘均分子量不同(在40万~80万)的壳聚糖,抑菌作用随分子量的升高而增强;而分子量相近脱乙酰度不同的壳聚糖对上述4种细菌的抑菌作用差别不大;在pH5.5~6.0壳聚糖能够发挥最强的抑菌作用;总体看来,壳聚糖对金黄色葡萄球菌的抑菌作用最强,其次是对假单胞菌和枯草杆菌,壳聚糖对大肠杆菌的抑菌作用相对弱一些;实验条件下的壳聚糖对上述4种细菌的抑菌作用普遍比苯甲酸钠强。

杨声、冯小强等<sup>[20]</sup>,研究了水溶性壳聚糖对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、变形杆菌(*Proteus* species)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、绿脓杆菌(*P. aeruginosa*)的抑菌作用。结果表明,水溶性壳聚糖在1%HAc中的抑菌性强于在水中的抑菌性,在5种被试菌中,其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制作用最强。

## 1.3 壳聚糖抑制植物病毒、类病毒

Paspieszny<sup>[21]</sup>发现,在多种植物(大豆、烟草等)叶片上喷洒或叶片注射壳聚糖可保护植株不受病毒的侵染,并且还认为壳聚糖抗病毒感染的效果与病毒-宿主系统、壳聚糖施用方式和使用剂量有关。Struszczyk证实了他的观点,壳聚糖的抗病毒作用是通过宿主细胞实现的,且壳聚糖的聚合程度越高,其抗病毒作用也越强,但与其脱乙酰度关系不大,而脱氨基壳聚糖对TMV(烟草花叶病毒)的抑制作用比未经修饰的壳聚糖聚合物强。

此外,Struszczyk将PSTV(马铃薯纺锤体形块茎病类病毒)与不同浓度壳聚糖混合后接种番茄植株。结果壳聚糖甚至在 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时即可有效抑制PSTV侵染,以0.1%的壳聚糖溶液喷洒植株叶片也同样有效,而且预先对番茄植株施用壳聚糖,然后再用病毒处理植株,可使番茄病毒感染率下降50%~75%。

他们认为壳聚糖的抗病毒和抗类病毒作用是 其引发植株本身的自然抗性所致。

## 2 壳聚糖抑制植物病原微生物的机理

壳聚糖对许多植物病原菌的生长都有很强的直接抑制作用。但是, 在壳聚糖的抑菌机理和抑菌特性方面, 不同的研究者得出的结论却不尽相同。大多数研究者<sup>[23-29]</sup>普遍认为, 壳聚糖对植物病原菌的直接抑制作用主要通过下面两种机制实现: (1)壳聚糖是甲壳素的多聚阳离子衍生物, 它可以与病原菌细胞表面的生物大分子带负电的侧链相互作用, 形成聚合物, 以至影响病原菌的细胞膜通透性(有时甚至可使细胞内物质渗出), 进而抑制病原菌的生长。(2)壳聚糖还可直接进入病原菌的细胞核, 与 DNA 结合通过影响病原菌的 mRNA 和蛋白质的合成来抑制其生长。

## 3 研究现状与应用前景

壳聚糖作为一种多聚物, 由甲壳素衍生而来。由于其具有比甲壳素优越的特性, 所以实际中常用的一般为壳聚糖。甲壳素作为壳聚糖的生产原料, 在自然界分布极广, 据估计, 自然界的生物每年能生产  $1.0\times 10^{12}$  t 的甲壳素, 其中可被现代化工业利用的就达  $2.0\times 10^6$  t<sup>[30]</sup>。这笔丰富的自然资源促使世界各国很早便开始对甲壳素和壳聚糖进行了大量的研究。

总的来讲, 美国和日本在甲壳素与壳聚糖应用研究上发展较快, 尤其在壳聚糖抑制植病方面, 美国已作了较为系统的研究。应该讲, 我国在此方面的研究起步并不晚, 目前存在的主要问题是: 重复性研究, 开发力度较分散, 多数研究者未及时将研究成果推广应用, 或虽有应用, 产品档次较低且规模不大, 产业化程度不高, 这些致使目前我国在农业生产中甲壳素类产品所占的份额微乎其微。不过相信壳聚糖等甲壳素衍生物会以它们无毒、无污染和生物相容性等诸多优良特性在农业生产中发挥越来越重要的作用。

### 参考文献:

[1] 章莹, 侯春林, 陈爱民 等. 壳聚糖化疗药物缓释药粒局部治疗骨巨细胞瘤的实验研究[J]. 中华实验外科杂志, 2000, 17(2): 231-233.

[2] 柴平海, 张文清, 金鑫荣. 低聚壳聚糖功能性能及研究[J]. 大学化学, 1999, 4(2): 36-39.

[3] 孟哲, 唐伟斌, 于淑玲. 壳聚糖及其衍生物的特性和应用[J]. 生物学教学, 2005, 30(10): 7-8.

[4] 张宗恩. 甲壳质化学的研究与应用进展[J]. 上海水产大学学报, 1998, 7(4): 32-39.

[5] 蒋挺大. 甲壳素[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995.

[6] Park J H, Cha B J, Lee Y N. Antibacterial activity of chitosan acetate on food-borne enteropathogenic bacteria[J]. Food Science and Biotechnology, 2003, 12(1): 100-103.

[7] Jeon Y J, Park P J, Kim S K. Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor[J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 44: 71-76.

[8] Liu X F, Guan Y L, Yang D Z, et al. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan[J]. Appl. Polym. Sci., 2000, 79(7): 1324-1335.

[9] 喻大昭, 扬小军, 扬立军 等. 低聚糖对植物病原真菌的抑制作用[J]. 湖北农业科学, 2002(6): 72-74.

[10] Nimla Benhamou, Georges T. Treatment with chimon enhances resistance of tomato plants to the crown and root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. radiclecypersici[J]. Physiol. mol., 1992, 41: 33-52.

[11] 廖春燕, 马国瑞, 洪文英. 壳聚糖对番茄枯萎病菌的拮抗作用[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2001, 27(6): 619-623.

[12] 董秋洪, 张样喜. 壳聚糖对辣椒疫霉病毒和水稻恶苗病毒的抑制作用[J]. 江西农业学报, 2003, 15(2): 58-61.

[13] 覃彩芹, 龙晶, 李会荣 等. 壳聚糖抗庭院植物病原真菌的活性[J]. 武汉大学学报(理学版), 2005, 51(4): 489-492.

[14] 钟秋平, 夏文水. 壳聚糖对芒果炭疽病菌、蒂腐病菌的拮抗作用[J]. 食品与机械, 2005, 21(1): 25-27.

[15] 李美芹, 肖慧, 孟祥红 等. 壳聚糖对番茄叶霉病菌的抑制作用[J]. 武汉大学学报(理学版), 2007, 53(2): 244-248.

[16] Hertryk Straszczyk. New Applications of chitin and its derivatives in plant protection[C]. //Henryk Straszczyk. Application of chitin and chitosan. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1997: 129-139.

[17] Jeon Y J, Park P J, Kim S K. Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor[J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 44: 71-76.

[18] 马鹏鹏, 何立千, 高天洲. 壳聚糖对植物病原细菌的抑制作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2003(5): 411-414.

[19] 吴小勇, 曾庆孝, 莫少芳 等. 几种壳聚糖的抑菌性能[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(2): 18-21.

[20] 杨声, 冯小强, 伏国庆 等. 水溶性壳聚糖对几种常见菌的抑制作用及其机理初探[J]. 中国酿造, 2007(5): 15-19.

[21] Pospieszny H. Induction of antiviral resistance in plants by chitosan[J]. Plant Sci., 1991, 79: 63-70.

[22] 郑连英, 朱江峰, 孙昆山. 壳聚糖的抗菌性能研究[J]. 材料科学与工程, 2000, 18(2): 22-24.

[23] Helander I M, Nurmiaho-Lassila E L, Ahvenainen R, et al. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative Bacteria[J]. international journal of Microbiology, 2001, 71: 235-244.

[24] Issam S T, Adele M G, Adele C P, et al. Chitosan polymer as bioactive coating and film against *Aspergillus niger* contamination[J]. Journal of Food Science, 2005, 70(2): 100-104.

[25] Coma V, Dedkamps A, Mattial A Gros. Bioactive packaging materials from edible chitosan polymer antimicrobial activity assessment on dairy related contaminants[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(9): 2788-2792.

[26] 吴迪, 蔡伟民. 壳聚糖对细菌细胞壁的影响[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2003, 20(3): 101-104.

[27] 叶磊, 何立千, 高天洲 等. 壳聚糖的抑菌作用及其稳定性研究[J]. 北京联合大学学报(自然科学版), 2004, 18(1): 79-82.

[28] 尹承慧, 侯春林, 蒋丽霞 等. 环丙沙星壳聚糖植入微球的制备及其体外释放研究[J]. 第二军医大学学报, 2002, 23(5): 536-539.

[29] LIU X F, Guan Y L, Yang D Z, et al. Antibacterial action of chitosan and carboxy methylated chitosan[J]. Appl. Polym. Sci., 2000, 79(7): 1324-1335.

[30] 黄丽萍, 刘宗明, 姚波. 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.