

· 研究论文 ·

培养条件对枯草芽孢杆菌 G8 抗菌蛋白含量的影响 及蛋白液对黄瓜菌核病的生防效果

石怀兴, 尚玉珂, 季静, 慕卫, 刘峰*

(山东农业大学 植物保护学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 为确定不同培养条件对枯草芽孢杆菌 G8 抗菌蛋白含量的影响, 用硫酸铵沉淀法提取了不同 pH, 以及不同温度、装液量和培养时间下获得的发酵液中的抗菌粗蛋白, 测定了其浓度和对黄瓜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 的抑制活性。结果表明, 在 Luria Bertani 培养基条件下, 适宜发酵产生抗菌蛋白的 pH 值、温度、装液量、培养时间和摇床转速分别为 7.0、37°C、75 mL/250 mL (250 mL 容器中装 75 mL 液体)、36 h 和 180 r/min。在此优化条件下, 1 L 发酵液经硫酸铵沉淀后的蛋白量达 48.4 mg。对在上述条件下获得的 G8 抗菌粗蛋白进行了温室及田间试验。结果表明, 浓度为 310.5 μg/mL 的 G8 对黄瓜菌核病的保护效果和防治效果分别为 76.14% 和 69.30%; G8 抗菌粗蛋白与高岭土 1:2 (V:W) 制成的膏剂对田间黄瓜茎部菌核病斑的治愈率为 65.07%。

关键词: 黄瓜菌核病; 抗菌蛋白; 发酵条件; 生物防治

中图分类号: S482.292

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)02-0244-06

Effect of Fermentation Factors on Production of Antifungal Protein by *Bacillus subtilis* Strain G8 and the Biocontrol Efficacy of Antifungal Protein on Sclerotial Blight of Cucumber

SHI Hua-xing SHANG Yu-ke JI Jing MU Wei LIU Feng*

(College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Taian 271018 Shandong Province, China)

Abstract To determine the factors of affecting production of antifungal protein from *Bacillus subtilis* strain G8, the fermentation broth cultured under different pH, temperature, inoculated size, incubation time was precipitated respectively by ammonium sulfate, and then the concentration of protein and the inhibition activity on *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary were determined. The results showed that the antifungal protein displayed optimum activity with Luria Bertani Medium (pH 7.0) and shaking under 180 r/min at presence of 30% (75 mL in 250 mL flask) broth content for 36 hours at 37°C. Under this optimal conditions, protein content achieves 48.4 mg in 1 L precipitated broth by ammonium sulfate. Using crude antifungal protein prepared under the above fermentation conditions at the concentration of 310.5 μg/mL, the protective and curative efficacy on cucumber sclerotial blight was 76.14% and 69.30%, respectively. The results of field trial indicated that the curative rate of a mixture of crude antifungal protein and kaolin [1:2 (V:W)] on disease spot of cucumber shoot was 65.07%.

收稿日期: 2008-09-24 修回日期: 2008-11-14

作者简介: 石怀兴 (1985-), 男, 硕士研究生, E-mail: shhx_344@163.com; * 通讯作者 (Author for correspondence): 刘峰 (1970-), 男, 山东沂水人, 博士, 副教授, 从事杀菌剂毒理及应用研究. 联系电话: 0538-8242611; E-mail: lliu@sdau.edu.cn

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目 (2006BAD17B07).

Key words *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary; antifungal protein; fermentation condition; biological control

枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 是自然界广泛存在的一类非致病细菌, 环境相容性好, 能产生广谱抗菌次生代谢产物, 在植物病害生物防治中已被广泛应用^[1-3]。迄今为止, 美国已有 4 株枯草芽孢杆菌生防菌获得环保局 (EPA) 商品化和有限商品化生产许可; 澳大利亚开发的 *B. subtilis* A-13 对麦类和胡萝卜有很好的防病和增产作用^[4]; 日本东京技术研究所的 *B. subtilis* RB14 和 NB22 分别对立枯丝核菌、镰刀菌和荧光假单胞杆菌引起的番茄病害有良好的防效^[5]。我国利用枯草芽孢杆菌防治植物病害的应用也达到了世界先进水平, 现已开发并成功投入生产的商品制剂有亚宝、百抗、麦丰宁、纹曲宁等, 主要用于防治小麦和水稻病害^[6], 而用于蔬菜病害防治的研究和报道尚不多见。

黄瓜菌核病是为害保护地黄瓜的重要土传病害, 笔者以黄瓜菌核病菌为指示菌, 从连续多年发生黄瓜菌核病的日光温室土壤中分离得到一株枯草芽孢杆菌 G8 该菌对黄瓜菌核病菌具有较高拮抗性, 且对其他病原菌具有广谱抑制活性。前期研究表明, G8 的抑菌作用机制为产生高度耐热的抗菌蛋白^[7], 鉴于抗菌蛋白的含量对于进一步研究和应用影响较大, 因此有必要针对抗菌蛋白的含量及活性进行培养条件的优化。笔者研究了影响抗菌粗蛋白发酵的部分因素, 并使用所得抗菌蛋白进行了生防试验。

1 材料与方法

1.1 供试材料

拮抗菌株: 枯草芽孢杆菌 *B. subtilis* G8 本研究室分离, 其 16S DNA 序列在 GenBank 登录号为 EF491625 指示菌株: 黄瓜菌核病菌 *S. sclerotiorum*, 本室保存。

LB 培养基: 胰蛋白胨 10 g 氯化钠 10 g 酵母粉 5 g 去离子水 1 000 mL, 用氢氧化钠调节 pH 为 7.5 以此作为拮抗菌 G8 的种子培养基和发酵培养基; PDA 培养基: 马铃薯 (去皮) 200 g 葡萄糖 10 g 琼脂 17~20 g 去离子水 1 000 mL。

主要试剂及仪器: 考马斯亮蓝 G-250 (Amresco 公司), 标准牛血清蛋白 (Signa 公司)。CR22 高

速冷冻离心机 (日本日立), UV-2201 紫外分光光度计 (日本岛津)。

1.2 抗菌蛋白的提取及活性测定

抗菌蛋白的提取采用盐析法^[8]。将发酵液在 4℃ 下于 10 000 r/min 离心 25 min 后, 过 0.22 μm 滤膜除去菌体, 向发酵上清液中加入硫酸铵至 40% 饱和度, 于 4℃ 下过夜沉淀, 10 000 r/min 下离心 20 min 收集沉淀, 用 20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5) 缓冲液溶解, 用量为发酵上清液体积的 1/20, 用透析袋 (MWCO: 8 000~14 000 Da) 在相同缓冲液中 4℃ 脱盐过夜得抗菌粗蛋白, 4℃ 下保存备用。

抗菌粗蛋白含量的测定采用 Bradford 法^[9], 以 BSA 作为标准蛋白。

活性测定采用琼脂孔扩散对峙法^[10]。将黄瓜菌核病菌菌饼 (≈ 8 mm) 接种于 PDA 平板中央, 在菌饼周围 2 cm 处均匀打 3 个孔 (≈ 8 mm), 将待测物注入孔内, 每孔约 60 μL, 24℃ 下培养 72 h, 测量抑菌圈半径, 以评价抑菌效果。

1.3 培养条件对抗菌蛋白含量的影响

以 LB 培养基为基础培养基, 在装液量 100 mL, 转速 180 r/min 和 37℃ 下分别改变培养基的初始 pH 值 (3.4, 5.6, 7.8, 9.10, 11)、培养温度 (17, 20, 25, 28, 30, 34, 37, 40, 42℃) 和培养时间 (12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 h), 以发酵液抗菌粗蛋白含量和对黄瓜菌核病菌的抑菌作用为指标, 确定最佳 pH 值、培养温度和培养时间, 在筛选出的最佳 pH 值、培养温度和培养时间条件下以 180 r/min 的转速改变装液量 (250 mL 三角瓶每瓶分别装液 50, 75, 100, 125, 150, 175 mL), 以 100 mL 的装液量改变摇床转速 (140, 160, 180, 200, 220, 240 r/min) 进行培养, 评价指标同上, 确定适宜的发酵条件。每组试验重复 3 次。

将在上述优化条件下发酵培养获得的抗菌粗蛋白用与发酵液同体积的 20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5) 缓冲液溶解, 用于室内盆栽及田间试验。

1.4 室内盆栽防效

1.4.1 黄瓜菌核病接种方法^[11] 叶片接种, 在培养好的黄瓜菌核病菌上打取 ≈ 8 mm 的菌饼, 反接在黄瓜叶片正面, 于 24℃ 光照培养箱中保湿培养。

1.4.2 叶片处理防效 选取培养 30 d 生长一致

的黄瓜幼苗,将 G8 抗菌粗蛋白溶液用 20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5) 缓冲液依次稀释成 0.5、10、20、40、80 倍液,分别在接种前 24 h 和接种后 24 h 用毛笔涂抹在叶片表面,每片约 1 mL,每处理 5 株幼苗,每株选取叶龄一致的一片真叶进行处理。以

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{病级叶数} \times \text{级数})}{\text{叶片总数} - \text{最高级数}}$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100$$

1.5 田间防效

试验时大棚的相对湿度为 60%,温度为 30℃,黄瓜菌核病处于发病中期。将用 Tris-HCl 溶解的抗菌粗蛋白与高岭土 1:2(V:W) 混合制成含菌膏剂,在黄瓜菌核病发病初期涂抹于茎基发病部位,涂抹面积稍大于发病面积。以 Tris-HCl 缓冲液与高岭土 1:2(V:W) 混合制成的缓冲液膏剂和 50% 多菌灵可湿性粉剂 600 倍液与高岭土 1:2(V:W) 混合的膏剂为对照。每处理 4 次重复,每重复 25 个病点。7 d 后检查治愈点数,计算治愈率和防效。

$$\text{治愈率}(\%) = \frac{\text{治愈点数}}{\text{处理点数}} \times 100$$

$$\text{防效}(\%) = \frac{\text{处理治愈率} - \text{对照治愈率}}{100 - \text{对照治愈率}} \times 100$$

2 结果与讨论

2.1 培养液 pH 值对抗菌蛋白含量的影响

培养液 pH 值对抗菌蛋白产生量的影响较大,pH 值为 3.0 时蛋白产生量较低,随 pH 的升高蛋白含量逐渐增加,至 pH 7.0 时蛋白量最多,活性较强,抗菌粗蛋白浓度为 935.2 μg/mL,抑菌圈半径为 10.5 mm (图 1),之后随 pH 的继续升高,蛋白含量又逐渐下降。总体上看适宜的 pH 范围为 6~8。

2.2 培养温度对抗菌蛋白含量的影响

G8 菌株在供试的 17~42℃ 范围内培养均可产生抗菌蛋白,在 37℃ 下随温度的升高蛋白含量增加,至 37℃ 达到最大值,之后随温度升高蛋白含量下降。从蛋白含量上分析,适宜的温度范围为 34~40℃,其中最适发酵温度为 37℃,此时的蛋白浓度为 954.3 μg/mL,抑菌圈半径为 12.7 mm (图 2)。

Tris-HCl 缓冲液与 50% 多菌灵可湿性粉剂 600 倍液按同样方法处理叶片作为对照,每处理重复 3 次。4 d 后参照朱建兰的黄瓜菌核病分级标准^[11]进行调查并计算病情指数和防治效果。

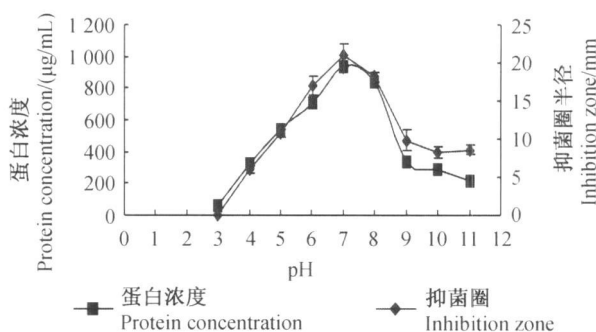


图 1 发酵液 pH 值对 G8 抗菌蛋白含量的影响
Fig. 1 Effect of pH value on antifungal protein production of G8

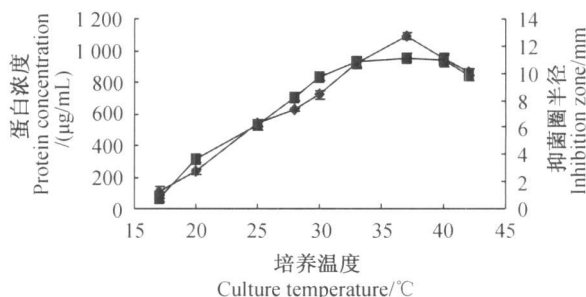


图 2 培养温度对 G8 抗菌蛋白含量的影响

Fig. 2 Effect of culture temperature on antifungal protein production of G8

2.3 培养时间对抗菌蛋白含量的影响

图 3 所示,抗菌粗蛋白产量随培养时间延长而增加,抑菌活性也随之提高,培养 36 h 的抗菌粗蛋白浓度为 952.4 μg/mL,抑菌圈半径为 13.1 mm,其后抑菌活性没有随时间的延长发生明显变化。

2.4 装液量对抗菌蛋白含量的影响

装液量为 75 mL/250 mL (250 mL 容器中装 75 mL 液体) 时抗菌粗蛋白浓度为 961.4 μg/mL,抑菌圈半径为 13.25 mm。随着装液量的增加,抗

菌粗蛋白产量和抑菌活性降低, 这可能是因为瓶中空气量减少, 菌体生长受到了影响。因此确定 75 mL /250 mL 为最适装液量 (图 4)。

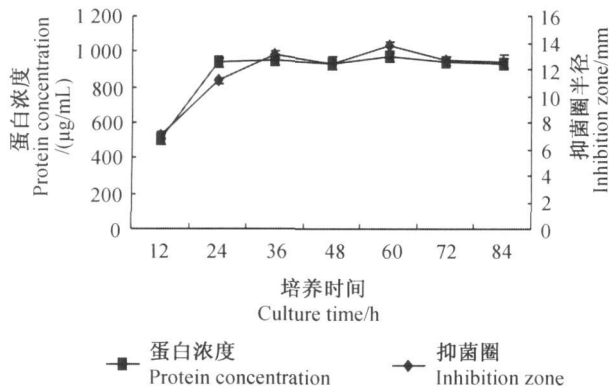


图 3 培养时间对 G8 抗菌蛋白含量的影响

Fig. 3 Effect of incubation period on antifungal protein production of G8

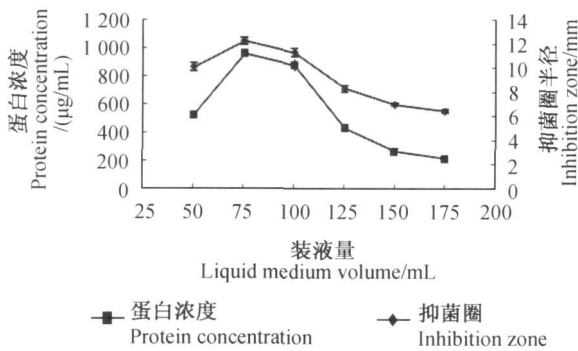


图 4 装液量对 G8 抗菌蛋白含量的影响

Fig. 4 Effect of liquid medium volume on antifungal protein production of G8

2.5 摇床转速对抗菌蛋白含量的影响

转速在 140~180 r/min 时随转速增加抗菌蛋白产量和抑菌活性均增加, 当转速为 180 r/min 时, 抗菌蛋白浓度达 968.6 μg/mL, 抑菌圈半径为 12.8 mm。转速大于 180 r/min 后, 抗菌蛋白产生量和抑菌活性均呈下降趋势, 这可能是由于随转速增加, 营养成分消耗过快或者机械损伤对菌体生长造成了影响。故最适摇床转速为 180 r/min (图 5)。

2.6 G8 抗菌蛋白对黄瓜菌核病的室内盆栽防效

叶面处理防效见表 1。涂抹抗菌粗蛋白溶液 24 h 后再接种病原菌以及先接种病原菌 24 h 后再涂抹抗菌粗蛋白溶液两种处理对黄瓜菌核病的防效均随着抗菌蛋白含量的提高而提高。其中, 先涂抹抗菌粗蛋白溶液再接种病原菌, 蛋白浓度为

310.5 μg/mL 时防效最高, 达到 76.14%, 接种病原菌 24 h 后再涂抹相同浓度蛋白溶液的治疗效果为 69.30%, 防治效果均明显高于其他浓度处理, 但均显著低于对照杀菌剂多菌灵。同时也可以看出, 所有处理的治疗效果均低于保护效果。

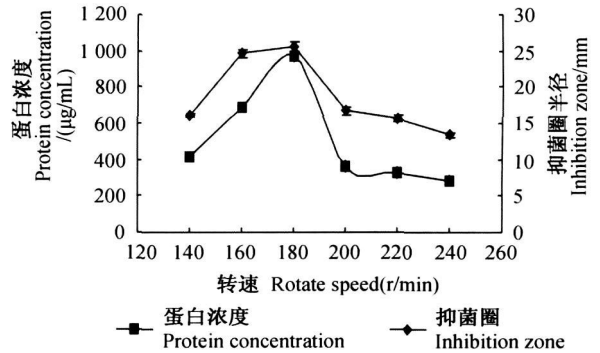


图 5 摇床转速对 G8 抗菌蛋白含量的影响

Fig. 5 Effect of rotate speed on antifungal protein production of G8

2.7 G8 抗菌蛋白对黄瓜菌核病的田间防效

含 G8 抗菌粗蛋白膏剂对黄瓜植株茎秆菌核病病斑的治愈率为 65.07%, 50% 多菌灵可湿性粉剂 600 倍液膏剂对黄瓜菌核病斑的治愈率为 67.5%, 两者效果差异不显著。

3 讨论

自 1945 年 Johnson 等率先报道了枯草芽孢杆菌可以产生抗菌蛋白以来, 人们从枯草芽孢杆菌的不同菌株中发现了 60 多种抗菌蛋白, 分别对小麦^[12]、棉花^[13]、水稻^[14]、烟草^[15]、大豆^[16]、油菜^[17]等作物上的致病菌具有强烈的抑制作用, 但将抗菌蛋白应用于防治黄瓜菌核病的研究尚未见报道。本研究中的枯草芽孢杆菌 G8 是针对黄瓜菌核病菌筛选出的拮抗菌, 其产生的抗菌蛋白具有广谱抗菌活性^[7]。

生防枯草芽孢杆菌菌剂的生产关键在于寻找适宜的发酶条件, 发酶条件的优化改良可以提高菌体繁殖力和抗菌物质的分泌量。本研究中, 在 pH 6~8、温度 34℃~40℃、转速 180 r/min 和装液量 75 mL /250 mL 等条件下培养 36 h, 枯草芽孢杆菌 G8 可产生抑菌活性较强的抗菌蛋白。除 pH 值变化对抗菌蛋白的产生量影响较大外, G8 菌株对温度、培养时间、装液量和摇床转速均具有广泛的适应性, 这为该菌今后进一步的开发应用提供了便利。

表 1 G8抗菌蛋白对黄瓜菌核病的防效

Table 1 Efficacy of antifungal protein G8 against *S. sclerotiorum*

处理 Treatment	浓度 Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	保护效果 Protective efficacy(%)		治疗效果 Curative efficacy(%)	
		防治效果 Control efficacy	病情指数 Disease index	防治效果 Control efficacy	病情指数 Disease index
G8抗菌蛋白	3.9	70.37	9.52 g	77.78	8.70 g
Antifungal protein of G8	7.8	62.96	19.05 f	72.56	14.82 fg
	15.5	55.56	28.57 e	62.33	26.83 e
	31.1	40.71	47.66 d	48.15	43.48 d
	62.1	25.93	66.67 c	33.33	60.88 c
50% 多菌灵可湿性粉剂	310.5	18.56	76.14 b	26.15	69.30 b
50% carbendazim WP	833.0	7.41	90.47 a	14.81	82.62 a
CK	-	77.78	-	85.19	-

注: 同列数据后不同字母表示邓肯氏新复极差检验在 5% 水平上差异显著, 下同。

Note: Data in a column followed by different letters indicate significant difference between the data at 0.05 level by Duncan's new multiple range method. The same as below.

表 2 G8抗菌蛋白对黄瓜菌核病的田间防效

Table 2 Field efficacy of antifungal protein of G8 against *S. sclerotiorum*

处理 Treatment	处理点数 Number of treating spots	发病点数 Number of disease spots	平均治愈率 Curative efficacy (%)	防治效果 Control efficacy (%)
G8抗菌蛋白	25	6.0	75.3	65.1 a
Antifungal protein of G8				
50% 多菌灵可湿性粉剂	25	5.5	78.2	67.5 a
50% carbendazim WP				
CK	25	17	33.1	-

将不同种类的生防芽孢杆菌发酵液直接用于田间防治是病害生物防治中一种简便易行的方法, 国内报道了其对于西瓜枯萎病^[18]、大豆根腐病^[19]、番茄灰霉病^[20]、黄瓜霜霉病^[21]、黄瓜枯萎病^[22]等均有一定的防治效果。但发酵液通常含有一些无机盐等其他营养物质, 不适合直接使用。本研究证实枯草芽孢杆菌 G8 发酵液中粗提的抗菌蛋白对黄瓜菌核病有较好的保护和治疗效果, 可以加工成一定规格的制剂应用。进一步的工作将集中在菌株的驯化或改造、抗菌蛋白的加工和田间应用技术以及抗菌蛋白的防病机理的研究等方面, 以便为该菌的产业化开发提供依据。

参考文献:

[1] WANG Xing-yun (王星云), SONG Kaw-wei (宋卡魏), ZHANG Rong-yi (张荣意). 枯草芽孢杆菌菌剂的开发应用 [J]. Guangxi Tropical Agriculture (广西热带农业), 2007, (2): 32-36

[2] ZHAO Da (赵达), FU Jun-fan (傅俊范), QIU Ji-yan (裘季燕), et al. 枯草芽孢杆菌在植病生防中的作用机制与应用

[J]. Liaoning Agric Sci (辽宁农业科学), 2007, (1): 46-48.

[3] BHARATHI R, VIVEKANANTHAN R, HARISH S, et al. Rhizobacteria-based Bio-formulations for the Management of Fruit Rot Infection in Chillies [J]. Crop Protection, 2004, 23 (9): 835-843

[4] BAKER K F. Evolving Concepts of Biological Control of Plant Pathogens [J]. Annual Review of Phytopathology, 1987, 25: 67-85.

[5] ASAKA O, SHODA M. Biocontrol of Rhizoctonia solani Damping-off of Tomato with Bacillus subtilis RB14 [J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(11): 4081-4085.

[6] LIU You-zhou (刘邮洲), CHEN Zhi-yi (陈志宜), FU Xin-min (傅锡敏). 生物杀菌剂纹曲宁田间高效使用技术研究 [J]. Jiangsu Agric Sci (江苏农业科学), 2006 (3): 76-78.

[7] ZHAI Ru-huan (翟茹环), SHANG Yu-ke (尚玉珂), LIU Feng (刘峰), et al. 枯草芽孢杆菌 G8 抗菌蛋白的理化性质和抑菌作用 [J]. Acta Phytobylacica Sinica (植物保护学报), 2007, 34(6): 592-596.

[8] GUO Yong (郭勇). Modern Biochemistry Technology (现代生化技术) [M]. Beijing (北京): Science Press (科学出版社), 2005: 9-13

[9] BRADFORD M M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding [J]. Anal Biochem, 1976: 72

- 248-254
- [10] HULTMARK D, STENER H, RASMUSON T, et al Purification and Properties of Three Inducible Bactericidal Proteins from Hemolymph of Immuned Pupae of *Hyalophora cecropia* [J]. *Eur J Biochem*, 1980 106: 7-16.
- [11] ZHU Jian-lan(朱建兰). 黄瓜菌核病发病因素的研究 [J]. *J Gansu Agric Univ* (甘肃农业大学学报), 2001, 36(2): 172-175.
- [12] ZHANG Ying(张颖), WANG Gang(王刚), WANG Yun-fan(王云帆), et al 枯草芽孢杆菌 B(2-47)对小麦全蚀病的防治及其病原的抑制作用 [J]. *J Henan Univ, Nat Sci* (河南大学学报, 自然科学版), 2006, 36(1): 79-81
- [13] JI Chun-yan(纪春艳), WANG Chun-li(王纯利), LUO Ming(罗明). 新疆棉花立枯病根际拮抗细菌的筛选 [J]. *J Northwest A & F Univ, Nat Sci Ed* (西北农林科技大学学报, 自然科学版), 2007, 35(5): 97-101.
- [14] LIU Yong-feng(刘永锋), CHEN Zhi-yi(陈志谊), LIU You-zhou(刘邮洲), et al 枯草芽孢杆菌 Bs-916 的抑菌活性及其抑菌物质初探 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学报), 2007, 9(1): 92-95
- [15] YI You-jin(易有金), LIU Ru-shi(刘如石), YIN Hua-qun(尹华群), et al. 烟草青枯病拮抗内生细菌的分离、鉴定及其田间防效 [J]. *Chinese J App Ecol* (应用生态学报), 2007, 18(3): 554-558.
- [16] FERNANDO W G D, RAMARATHNAM R, KRISHNAM OORTHY A S, et al Identification and Use of Potential Bacterial Organic Antifungal Volatiles in Biocontrol [J]. *Soil Biol Biochem*, 2005, (5), 37 955-964
- [17] FERNANDO W G D, NAKKEERAN Y, ZHANG Y, et al Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* Species on Canna Petals [J]. *Crop Protection*, 2007, 26(2): 100-107.
- [18] LI Qi-qin(黎起秦), CHEN Yong-ning(陈永宁), LIN Wei(林纬), et al 西瓜枯萎病生防细菌的筛选 [J]. *J Guangxi Agric Biol Sci* (广西农业生物科学), 2000 19(2): 81-84.
- [19] GUO Rong-jun(郭荣君), LU Xing-zhong(刘杏忠), YANG Hua-wen(杨怀文), et al 芽孢杆菌 BH-1 防治大豆根腐病的效果及机制 [J]. *Chinese J Biol Control* (中国生物防治), 2003 19(4): 180-184.
- [20] TONG Yun-hui(童蕴慧), GUO Gui-ping(郭桂平), XU Jing-you(徐敬友), et al 拮抗细菌对番茄植株抗灰霉病的诱导 [J]. *Chinese J Biol Control* (中国生物防治), 2004, 20(3): 187-189.
- [21] ZHANG Shu-mei(张淑梅), SHA Chang-qing(沙长青), WANG Yu-xia(王玉霞), et al 枯草芽孢杆菌 ZH-8 对黄瓜霜霉病防治效果的研究 [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2004 14(4): 56-57.
- [22] CHEN Xue-li(陈雪丽), WANG Guang-hua(王光华), JIN Jian(金剑), et al 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 和枯草芽孢杆菌 BRF-2 对黄瓜和番茄枯萎病的防治效果 [J]. *Chinese J Eco-Agric* (中国生态农业学报), 2008, 16(2): 446-450.

(Ed JN SH)

• 专利介绍 •

专利名称: 蜘蛛体内消化酶活性的快速检测方法——四维信息法

专利申请号: CN 200610031346 3 公开号: CN 101038291

申请日: 2006.03.14 公开日: 2007.09.19 申请人: 王智

本发明公开了一种农药对捕食性天敌体内消化酶活性影响的快速检测方法,即四维信息动态监测法。该方法是一个由网络频谱阻抗分析仪、电子计算机和金电极等组成的检测架,在农药的影响下,对捕食性天敌体内消化酶活性进行快速检测。利用本方法实时动态监测拟环纹豹蛛中肠蛋白消化酶对酪蛋白的酶促水解过程及三大类农药对酶活性的影响,结果表明这三大类农药的合适低剂量可显著地增强蛋白消化酶的活性,较高剂量的农药可显著抑制蛋白酶的活性,且水解过程稳态频移值可准确地反映酶活性与农药浓度的关系,证实该法比传统的紫外分光光度分析法优势明显,可广泛用于生物酶的活性检测。

(王元荪 供稿)