

# 细辛精油对六种苹果病害的离体抑菌活性

王桂清<sup>1,2</sup>, 张秀省<sup>2</sup>, 姬兰柱<sup>1</sup>

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所 110016; 2. 聊城大学农学院 山东 252059)

**摘要:**细辛是一种重要的中草药,活性物质主要是挥发油。研究采用生长速率法和孢子萌发法测定了细辛精油对引起苹果病害的6种病原菌(灰斑病菌、褐斑病菌、斑点落叶病菌、炭疽病菌、苹果轮纹病菌和干腐病菌)的菌丝生长和4种病原菌(灰斑病菌、褐斑病菌、斑点落叶病菌、炭疽病菌)的孢子萌发的影响。结果表明,细辛精油对两者均有一定的抑制作用;对褐斑病菌菌丝生长的抑制效果最好,EC<sub>90</sub>仅为397.37mg/L;对炭疽病菌孢子萌发的抑制效果最好,EC<sub>90</sub>仅为276.77mg/L。对于同一种病原菌来说,细辛精油对其孢子萌发的抑制效果好于对其菌丝生长的抑制效果。

**关键词:**细辛;精油;苹果病害;抑菌活性

**中图分类号:**S 482.2<sup>+</sup> 92;S 436.611.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)06-0029-04

植物源农药的研发倍受人们的关注与青睐,从植物中寻找农药活性物质,研究开发植物源农药是目前农药研究领域的热点之一<sup>[1,2]</sup>。辽细辛(北细辛, *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim) Kitag.)为马兜铃科(Aristolochiaceae)细辛属(*Asarum* Linn.)植物,为一年生至多年生草本,我国南北各省均有分布,根供药用,是重要的中草药,活性物质主要为挥发油(植物精油,含量2.5%以上),油中至少有25种成分,主含甲基丁香酚(methyl eugenol),另含黄樟醚(satrole)、优香芹酮(eucarvone)、 $\alpha$ -及 $\beta$ -蒎烯( $\alpha$ -,  $\beta$ -pinene)、榄香脂素(elemicin)、细辛醚(asaricine)、爱草醚(estragole)、茨烯(camphene)等<sup>[3]</sup>。

试验对辽细辛的地下部分进行了研究,拟探讨其精油在离体条件下对苹果病害的抑菌作用,为开发植物杀菌剂提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物样品及提取

供试植物样品为辽细辛的根,购买于同仁堂药房。将其进一步阴干,粉碎,40目过筛。准确称取样品

1.85kg,装入5L的萃取罐内,超临界CO<sub>2</sub>萃取:萃取压力20MPa,萃取温度40℃,流量20kg/h;解析釜I压力6~7MPa,温度45℃;解析釜II压力5~6MPa,35℃,萃取时间为90min,每20min收集提取物称量,密封,置4℃冰箱中保存备用。

### 1.2 供试菌株

供试菌种有6种,分别为引起苹果病害的灰斑病菌(*Phyllosticta pirina* Sacc)、褐斑病菌(*Marsso-nina mali* (P. Henn) Ito.)、斑点落叶病菌(*Alternaria alternaria* f. sp. *mai* Roberts)、炭疽病菌(*Glœsporium fructigenum* Berk.)、轮纹病菌(*Botryospuaeria berengeriana* de Not. t. sp. *Piricola* (Nose) Kogonezawa et Sukuma)和干腐病菌(*Botryosphaeria berengeriana* Tode Not),均由聊城大学农学院提供。

### 1.3 药液的配制

菌丝生长抑制试验药液的配制:先将细辛精油用少许无水乙醇充分溶解,用无菌水配制成16 000mg/L的母液,然后用无菌水稀释成16 000、8 000、4 000、2 000、1 000mg/L等5个浓度梯度,备用。孢子萌发抑制试验药液的配制:将细辛精油用二甲基亚砷配制成64 000、32 000、16 000、8 000、4 000mg/L等5个浓度梯度,备用。

### 1.4 生物测定方法

1.4.1 生长速率法(琼胶平板法) 以生长速率法<sup>[4]</sup>测定细辛精油对6种病原菌菌丝生长的抑制作用。所用培养基为PDA培养基,药液终浓度分别为1 600、800、400、200、100mg/L。菌饼直径0.5cm,每皿1块,3次重复,25℃光照培养箱中培养。待对照菌落直径大约在3cm以上时,测量菌落直径。根据菌落直径求抑制生长的百分率。

第一作者简介:王桂清(1968-),女,黑龙江北安人,教授,博士,在研博士后,研究方向为植物保护的教学与科研, E-mail: guiqing-wang2003@yahoo.com.cn.

通讯作者:姬兰柱(1960-),男,辽宁抚顺人,研究员,博士生导师,研究方向为昆虫生态学、分类学等, Tel: 024-83970302 E-mail: j.lanzhu@iae.ac.cn.

基金项目:中国科学院知识创新方向性资助项目(KZCX1-SW-19)和中国科学院农办重点项目。

收稿日期:2007-03-12

1.4.2 孢子萌发法(悬滴法) 以孢子萌发法<sup>[9]</sup>测定细辛精油对灰斑病菌、褐斑病菌、斑点落叶病病菌和炭疽病菌4种病原菌孢子萌发的抑制作用。以96孔微孔培养板代替凹槽载玻片。吸取孢子悬液78μL与2μL植物提取试验药液混合使之达到规定浓度(药液终浓度分别为1600、800、400、200、100mg/L),以二甲基亚砜(2μL+78μL无菌水)为空白对照,3次重复,12~24h观察结果,计算孢子萌发抑制率。

1.5 精油对病原菌的抑制毒力回归线的建立

取细辛精油适当量,加入一定量的无水乙醇使之完全溶解,用无菌水等比稀释成1600、800、400、200、100mg/L系列浓度。试验重复3次,建立毒力回归方程。将抑菌的百分率转换成几率制,浓度转换成对数,进行几率值分析,求出细辛精油对6种引起苹果病害的不同病原菌的抑制中浓度(EC<sub>50</sub>)。

1.6 数据分析

试验数据的线性回归等均由SPSS13和DPS v8.01完成。

表1 细辛精油对6种病原菌菌丝生长的抑制率

病原菌	菌丝生长抑制率(%)				
	100mg/L	200mg/L	400mg/L	800mg/L	1600mg/L
灰斑病菌	20.1867±2.4366 A	31.6567±0.6453 D	51.9633±0.7629 C	63.0333±4.6413 C	88.3500±1.8621 B
褐斑病菌	20.1433±4.3102 A	61.5800±3.7417 A	75.8433±1.3606 A	93.8167±0.9961 A	100.0000±0.0000 A
斑点落叶病病菌	26.5400±3.9597 A	39.6033±3.3230 C	52.5867±1.5621 C	71.7667±2.5051 B	89.2200±3.4431 B
炭疽病菌	17.6500±0.4732 A	23.8167±3.3685 E	49.7467±6.7435 C	66.8833±2.4232 BC	94.8867±1.3372 AB
轮纹病菌(果)	24.2833±7.4836 A	41.0367±1.6185 C	56.6400±2.8261 BC	63.1967±3.2208 C	69.9033±2.4731 C
干腐病菌	25.4367±0.9820 A	47.7467±2.2862 B	63.9967±1.7204 B	73.6333±0.8439 B	91.6400±6.0804 AB

2.2.2 对6种病原菌菌丝生长的抑制中浓度 在实验室条件下,测定了细辛精油对7种不同病原菌抑菌效果,将抑菌的百分率转换成几率制,浓度转换成对数,进行几率值分析可以求出细辛精油对6种不同病原菌的抑制中浓度(EC<sub>50</sub>),结果见表2。从表2可以看出,细辛精油对苹果褐斑病菌的抑制效果最好,EC<sub>50</sub>和EC<sub>90</sub>仅为194.73mg/L和397.37mg/L(转换成样品干重的质量浓度分别为:8.578mg/mL和17.505mg/mL);对苹果轮纹病菌(果)的抑制效果较差,EC<sub>50</sub>为381.58mg/L,而EC<sub>90</sub>高达7362.1mg/L(质量浓度分别为:16.810mg/mL和324.322mg/mL),对其它4种苹果病害病原菌菌丝生长的抑制效果居中。

表2 细辛精油对6种苹果病原菌菌丝生长的抑制效果

病原菌	毒力回归方程	相关系数(r)	SE	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>90</sub> (mg/L)
灰斑病菌	Y=0.8469+1.6162X	0.9836	32.303	371.19	2304.40
褐斑病菌	Y=-4.4720+4.1374X	0.9278	10.323	194.73	397.37
斑点落叶病病菌	Y=1.2477+1.5180X	0.9887	28.620	296.35	2070.40
炭疽病菌	Y=-0.3390+2.0843X	0.9688	25.869	364.28	1500.80
轮纹病菌(果)	Y=2.4261+0.9970X	0.9743	51.158	381.58	7362.10
干腐病菌	Y=1.2054+1.5855X	0.9891	24.969	247.38	1591.10

2.3 对4种病原菌孢子萌发的抑制作用

2 结果与分析

2.1 供试植物样品的提取率

辽细辛根的精油采用超临界CO<sub>2</sub>提取,1.85kg的原料共萃取得到42g精油,提取率为2.27%。试验药液中浓度分别为1600、800、400、200、100mg/L,转换成样品干重的质量浓度分别为:70.48、35.24、17.62、8.81、4.405mg/mL。

2.2 对6种病原菌菌丝生长的抑制作用

2.2.1 对6种病原菌菌丝生长的抑制率 在供试条件下,各处理的抑菌效果见表1(附图1~5所示)。从表1可以看出,细辛精油对引起苹果病害的6种病原菌均有很好的抑制效果,在供试条件下,抑菌效果均随精油浓度的加大而增高。在100mg/L浓度下,细辛精油对6种病原菌的抑菌效果有一定的差异,但没有达到极显著;浓度达到和超过200mg/L,对6种病原菌的抑菌效果表现出极显著的差异,如在1600mg/L浓度下,对褐斑病菌的抑菌效果高达100%,而对轮纹病菌的抑菌效果只有69.90%。

2.3.1 对4种病原菌孢子萌发的抑制率 测定了细辛精油对苹果灰斑病菌等4种病原菌孢子萌发的影响,结果见表3。从表3可以看出,细辛精油对4种苹果病害的病原菌的孢子萌发具有较强的抑制作用,从供试浓度看,当精油浓度大于200mg/L时,孢子萌发抑制率均高于50%;当精油浓度小于200mg/L时,孢子萌发抑制率均低于50%;当精油浓度等于200mg/L时,孢子萌发抑制率差异较大。从病原菌看,细辛精油对苹果炭疽病菌的抑制作用最好,当精油浓度达到800mg/L时,孢子萌发抑制率就已经达到100%,而对其它3种病原菌孢子萌发的抑制率均为85%左右。

2.3.2 对4种病原菌孢子萌发的抑制中浓度 根据表3结果,分析了细辛精油对4种不同病原菌孢子萌发的抑菌效果,根据几率值分析求出了细辛精油对4种不同病原菌孢子萌发的抑制中浓度(EC<sub>50</sub>),结果见表4。从表4可以看出,比较EC<sub>50</sub>,细辛精油对4种苹果病原菌孢子萌发的抑制效果相当,但比较EC<sub>90</sub>,细辛精油对4种苹果病原菌孢子萌发的抑制效果则表现出很大差异,对炭疽病菌孢子萌发的抑制效果最好,EC<sub>90</sub>仅为276.77mg/L(质量浓度为12.193mg/mL);对斑点落叶

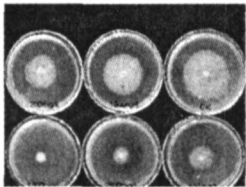
病菌的抑制效果较差,EC<sub>90</sub>为880.79mg/L(质量浓度为38.801mg/mL)。

表3 细辛精油对4种苹果病原菌孢子萌发的抑制率

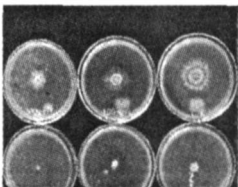
病原菌	孢子萌发抑制率(%)				
	100mg/L	200mg/L	400mg/L	800mg/L	1600mg/L
灰斑病菌	17.6467±0.9890 BC	41.5467±4.7527 B	59.4933±2.5193 C	85.4733±3.0718 B	100.0000±0.0000 A
褐斑病菌	13.1400±4.4366 C	40.6000±8.8376 B	73.9800±2.5480 B	88.7867±0.8556 B	100.0000±0.0000 A
斑点落叶病菌	22.7533±1.6716 B	36.9267±1.3100 B	60.5867±2.2895 C	86.9067±2.7846 B	98.0583±0.7962 B
炭疽病菌	30.2867±3.0301 A	61.9667±1.5684 A	85.9100±0.9677 A	100.0000±0.0000 A	100.0000±0.0000 A

表4 细辛精油对4种苹果病原菌孢子萌发的抑制效果

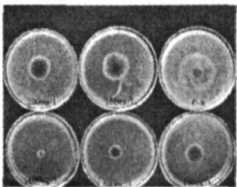
病原菌	毒力回归方程	相关系数(r)	SE	EC <sub>50</sub> (mg/L)	95%CL	EC <sub>90</sub> (mg/L)
灰斑病菌	Y=-4.9630+4.2072X	0.8962	10.517	233.36	213.631~254.911	470.59
褐斑病菌	Y=-5.3820+4.3947X	0.9266	10.540	230.30	210.537~251.908	450.72
斑点落叶病菌	Y=-0.6460+2.3525X	0.9878	18.542	251.24	217.403~290.339	880.79
炭疽病菌	Y=-5.9140+4.9938X	0.9441	7.9876	153.28	138.397~169.763	276.77



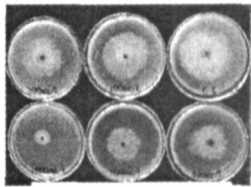
细辛精油对苹果灰斑病菌的抑制作用



细辛精油对苹果褐斑病菌的抑制作用



细辛精油对苹果斑点落叶病菌的抑制作用



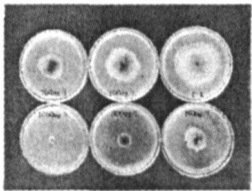
细辛精油对苹果轮纹病菌的抑制作用

图1 细辛精油对苹果灰斑病菌的抑制作用

图2 细辛精油对苹果褐斑病菌的抑制作用

图3 细辛精油对苹果斑点落叶病菌的抑制作用

图4 细辛精油对苹果轮纹病菌(果)的抑制作用



细辛精油对苹果轮纹病菌(干)的抑制作用

图5 细辛精油对苹果轮纹病菌(干)的抑制作用

3 结论与讨论

研究表明,细辛精油对6种引起苹果病害的病原菌(灰斑病菌、褐斑病菌、斑点落叶病菌、炭疽病菌、苹果轮纹病菌和干腐病菌)的菌丝生长和4种病原菌(灰斑病菌、褐斑病菌、斑点落叶病菌、炭疽病菌)的孢子萌发均有一定的抑制作用。对褐斑病菌菌丝生长的抑制效果最好,EC<sub>90</sub>仅为397.37mg/L;对炭疽病菌孢子萌发的抑制效果最好,EC<sub>90</sub>仅为276.77mg/L。

对于同一种病原菌来说,细辛精油在供试条件下,抑菌效果均随精油浓度的加大而增高,且对其孢子萌发的抑制效果好于对其菌丝生长的抑制效果。如对灰斑病菌,对其孢子萌发的抑制效果较好,EC<sub>90</sub>为470.59mg/L;而对其菌丝生长的抑制效果较差,EC<sub>90</sub>高达2304.40mg/L。

张国珍等<sup>[9]</sup>(1995)研究了麻黄(*Ephedra sinica*)和北细辛挥发油的抗真菌作用,结果表明两者对 *Alternaria*

*panax*, *Phytophthora cactorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Ustilago coicis* 等真菌的菌丝生长和孢子萌发具有一定的抑制作用和熏蒸作用,麻黄油和细辛油对 *R. solani* 的 EC<sub>50</sub> 分别为 53.7mg/L 和 87.8mg/L, 其熏蒸作用均随培养时间的延长表现出不同程度的增强;10% 的细辛水提取物对立枯丝核菌等有一定的抑菌效果<sup>[7]</sup>;细辛的乙醇提取物对番茄灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 具有较强的室内抑菌活性<sup>[8]</sup>。从以上的研究结果可以看出,细辛作为农药防治病虫害具有一定的开发前景。

参考文献

[1] 薛伟,宋宝全,周霞,等. 抗菌植物的研究新进展[J]. 农药,2005,44(6):241-246.  
[2] 邹先伟,蒋志胜. 杀虫植物的研究新进展及应用发展前景[J]. 农药,2004,43(11):481-486.  
[3] 回瑞华,魏伟,盖泽广. 辽细辛挥发油化学成分的研究[J]. 辽宁大学学报,1993,20(2):87-93.  
[4] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1987:141-145.  
[5] 方中达. 植物病理研究方法 第3版[M]. 北京:中国农业出版社,1998:152.  
[6] 张国珍,樊瑛,丁万隆,等. 麻黄和细辛挥发油的抗真菌作用[J]. 植物保护学报,1995,22(4):373-374.  
[7] 李永刚,文景芝. 中、草药水提取物抑菌活性的测定[J]. 东北农业大学学报,2003,34(4):396-399.  
[8] 王树桐,曹克强,胡同乐,等. 对番茄灰霉病菌有抑菌活性的丁香和细辛提取物提取条件研究[J]. 河北农业大学学报,2004,27(1):69-72.

# 迷你黄瓜新品种绿多星的选育

刘剑辉

(黑龙江省农科院园艺分院 哈尔滨 150069)

**摘要:**以自交系 HL156 为母本(HL-6-20 与 HL-9-30 杂交后代中选育)、HL133 自交系为父本(以 HL-8-12 为材料经系统选育获得)配制而成一代杂种绿多星,该品种为水果型黄瓜,耐低温弱光与高温长日照,可在保护地内种植,栽培不易化瓜,畸形瓜率低,高抗霜霉病、角斑病、抗白粉病。全雌型,生长势旺盛,可持续结瓜,瓜长 15.0cm 左右,横径 2.5cm,整齐度高,瓜色绿,无刺瘤,无瓜把,着色均匀,果面有光泽,清香味浓。

**关键词:**水果型黄瓜;绿多星;一代杂种

**中图分类号:**S 603.842.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2007)06-0032-02

## 1 选育过程

绿多星的母本为从荷兰引进的 2 个材料 HL-6-20 与 HL-9-30 杂交后代中选育出的自交系 HL156 生长势强;父本为另一份引进材料 HL-8-12 经系统选育出的优良自交系 HL133,生长势中等,两者均为雌性系,亲本自交系的选育从 2000 年春开始,对低温弱光耐受性、耐热性、生长势、抗病性、开花结果习性以及瓜条商品性和食

用品质进行了选择。2002 年春完成 6 代,自交系性状基本稳定,同时按照不完全双列杂交法配制组合,进行配合力测定和强优势组合选配。2003~2004 年在黑龙江省农科院园艺分院进行品种比较试验,同时在黑龙江省牡丹江、佳木斯、齐齐哈尔地区进行小规模区域试验,HL156×HL133 综合经济性状优良,定名为绿多星,2005 年进行较大规模的区域试验和生产试验,2006 年开始在生产上推广应用。

## 2 选育结果

### 2.1 低温弱光耐受性和耐热性

选用的育种材料均源于欧洲温室品种,对弱光的适应性较好,将亲本自交系置于临界低温下胁迫,根据冷害指数进行筛选,从而提高了品种对临界低温的适应

**作者简介:**刘剑辉(1973-),男,学士,副研究员,现任黑龙江省农科院园艺分院旱黄瓜育种室主任,从事旱黄瓜育种工作, E-mail: liujianhui188@sina.com.

**基金项目:**黑龙江省农业科学院创新工程重点研究项目。

**收稿日期:**2007-03-21

## The Antibacterial Activity of Asarum Essential Oils on Diseases in Apples in Vitro

WANG Gui-qing<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiu-sheng<sup>2</sup>, JI Lan-zhu<sup>1</sup>

(1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016; 2. College of Agronomy, Liaocheng University, Shandong 252059)

**Abstract:** The asarum (*Asarum heterotropoides*) is a traditional herbal medicine in China. Its main active components are volatile oils. The effects of asarum essential oils on hyphae growth of six pathogens (*Phyllosticta pirina*, *Marsso-nina mali*, *Alternaria alternaria*, *Gleospodium fructigenum*, *Botryospuaeria berengeriana* de Not. t. sp., *Botryospuaeria berengeriana*) and spore germination of four pathogens (*Phyllosticta pirina*, *Marsso-nina mali*, *Alternaria alternaria*, *Gleospodium fructigenum*) in apple were studied in this article. The growth rate method and spores germination method were used to determine the activities. The results showed that the asarum essential oils has significant antibacterial activity on tested pathogens, while effects on spores germination were higher than that on hyphae growth. The effect on hyphae growth of *Marsso-nina mali* was best,  $EC_{50} = 397.37 \text{ mg/L}$ . The effect on spores germination of *Gleospodium fructigenum* was best,  $EC_{90} = 276.77 \text{ mg/L}$ .

**Key words:** Asarum; Essential oils; Diseases in apple; Antibacterial activity