

菊花提取物对番茄晚疫病病菌抑制效果的研究

曹 静¹, 段英姿², 马艳芝²

(1. 聊城大学 农学院, 山东 聊城 252059; 2. 唐山师范学院 生物系 河北 唐山 063000)

摘 要: 在室内以甲霜灵为化学对照, 80%乙醇为空白对照测试了菊花乙醇提取物对番茄晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)菌丝生长和孢子囊萌发的抑制作用, 以及光照、温度对菊花提取物抑菌效果的影响。结果表明: 菊花的乙醇提取物抑制番茄晚疫病病菌菌丝生长的有效中浓度为稀释 470 倍, 抑制孢子囊萌发的有效中浓度为稀释 1 055 倍; 光照强度在 6 000~80 000 lx 范围内, 温度在 40~90℃范围内, 菊花提取物的抑菌效果和化学药剂甲霜灵差异不显著。

关键词: 菊花; 植物提取物; 番茄晚疫病; 抑制效果

中图分类号: S 482.2⁺92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)02-0111-02

Wilkins 等报道有 1 389 种植物可能作为杀菌剂, 植物中的抗毒素、类黄酮、有机酸以及酚类化合物等都具有杀菌或抑菌活性^[1]。毛竹提取物、丝瓜伤流液等都具有抑菌活性^[2-3]。菊花提取物对番茄晚疫病具有抑菌活性(前期试验证明), 在此基础上该研究选用菊花提取物作为试验材料, 测试了抑制番茄晚疫病菌生长的有效中浓度以及环境因素中温度和光照对菊花提取物抑菌效果的影响, 为进一步开发菊花植物源杀菌剂奠定基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

植物材料: 菊花(*Dendronthema orifolium* (Ramat) Tzvel); 供试菌种: 番茄晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)。

1.2 试验方法

1.2.1 菊花提取物母液的制备 取经粉碎的植物材料 50 g, 加 80%乙醇 200 mL, 30℃, 160 r/min 恒温振荡 24 h, 然后 4 000 r/min 离心 20 min, 取上清液在 50℃下旋转蒸发浓缩至 30 mL 以下, 用 80%乙醇定容至 50 mL, 保存备用。

1.2.2 温度处理 将菊花的乙醇提取物分别在 40、50、60、70、80 和 90℃水浴条件下处理 8 h, 分别以马铃薯晚疫病病菌作为供试菌用生长速率法进行生物活性测定。

1.2.3 光照处理 将菊花的乙醇提取物分别在 6 000~80 000 lx 光照下处理 12、24、48、72 h, 以番茄晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)作为供试菌用生长速率法进行生物活性测定, 以不经光照处理的提取物作为对照, 检测光照对提取物活性的影响。

1.2.4 菌丝生长速率法 将黑麦培养基(1 kg 培养基

需黑麦 60 g, 琼脂粉 5 g, 葡萄糖 20 g)冷却至 50℃左右, 每 100 mL 培养基中加入待测提取物母液, 摇匀。制成带药培养基, 倒入直径为 9 cm 的培养皿中, 冷却后在皿中央接种直径为 0.6 cm 的番茄晚疫病病菌菌盘。每个处理重复 4 次。以 80%乙醇稀释 200 倍为空白对照, 以甲霜灵 3 000 倍液为化学药剂对照, 17℃恒温黑暗培养。15 d 后用十字交叉法测量菌落直径^[4]并计算抑菌率: 抑菌率(%)=(CK 净生长量-处理净生长量)/CK 净生长量×100(净生长量=菌落直径-菌盘直径)^[5]。

1.2.5 孢子萌发法 用蒸馏水将菊花提取物稀释, 再与孢子囊悬浮液(大约 2×10⁴ 个/mL)各 10 μL 滴于载玻片上混合均匀, 悬滴法保湿并放在 10℃恒温培养箱内培养, 3 h 后观察并记录孢子囊的萌发百分率^[6]。每个处理重复 4 次, 以稀释 500 倍的 80%乙醇为空白对照, 以甲霜灵 3 000 倍稀释液为化学药剂对照。绘制抑制率曲线从而得到该曲线的拟合方程, 根据方程可以计算出菊花提取物对番茄晚疫病病菌菌丝的抑制中浓度。

2 结果与分析

2.1 温度对菊花提取物抑菌效果的影响

将菊花提取物在 40、50、60、70、80 和 90℃水浴条件下处理 8 h 之后, 每 100 mL 黑麦培养基中加 0.5 mL 菊花提取物, 制成稀释 200 倍的带药培养基, 测试对番茄晚疫病病菌菌丝生长的影响, 结果见图 1。由图 1 可以看出, 温度对菊花提取物的抑菌效果影响不显著。

2.2 光照对菊花提取物抑菌效果的影响

将菊花提取物直接在 6 000~80 000 lx 光照条件下处理 12、24、48、72 h 之后, 每 100 mL 黑麦培养基中加 0.5 mL 菊花提取物, 制成稀释 200 倍的带药培养基 测试对番茄晚疫病病菌菌丝生长的影响, 结果见图 2。由图 2 可以看出, 光照对菊花提取物的抑菌效果影响不显著。

2.3 菊花提取物对菌丝生长的抑制中浓度

用黑麦培养基将菊花提取物分别稀释 200、250、

第一作者简介: 曹静(1975-), 女, 河北省深泽县人, 硕士, 讲师, 现从事植保专业教学与科研工作。E-mail: zhaozhijun73@163.com.
收稿日期: 2008-09-20

300、350、400、450、500 倍, 测试其对番茄晚疫病病菌菌丝生长的抑制中浓度, 结果见表 1。根据表 1 得出菊花提取物对番茄晚疫病病菌抑制率与稀释倍数的拟和方程:

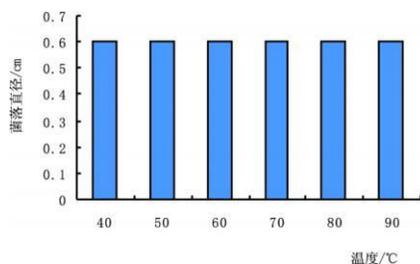


图 1 温度对菊花抑菌效果的影响

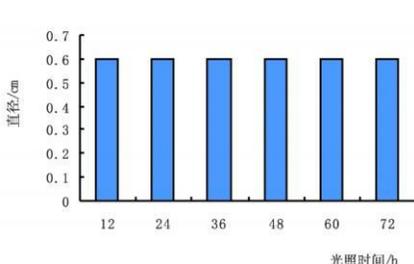


图 2 光照强度对菊花抑菌效果的影响

表 1 菊花提取物稀释不同倍数对番茄晚疫病病菌菌丝生长的抑制作用

稀释倍数	菌落直径/cm	抑制率 %
80%乙醇	9.0a	0
500	5.33b	43.75
450	4.5c	53.57
400	3.7d	63.10
350	2.9e	72.62
300	1.4f	90.48
250	0.98g	95.53
200	0.6g	100.00
甲霜灵 3 000 倍液	0.6 g	100.00

2.4 菊花提取物对孢子囊萌发的抑制中浓度

表 2 菊花提取物稀释不同倍数对番茄晚疫病病菌孢子囊萌发的抑制作用

稀释倍数	孢子囊萌发率/%	抑制率 %
80%乙醇	88.4a	0.0
2 500	86.3ab	2.4
2 000	80.1b	8.3
1 500	63.0c	28.7
1 000	45.9d	48.2
500	18.7e	78.9
甲霜灵 3 000 倍液	5.0 f	94.3

用蒸馏水将菊花提取物稀释 500、1 000、1 500、2 000 和 2 500 倍再与 2×10^4 个/mL 孢子囊悬浮液各 10 μ L 滴于载玻片上混合均匀悬滴保湿, 测试其对番茄晚疫病病菌孢子囊萌发的抑制中浓度, 结果见表 2。根据表 1

$y = -0.002x + 1.4416 (R^2 = 0.978)$, 根据方程可计算菊花提取物抑制番茄晚疫病病菌菌丝生长的有效中浓度即: 稀释 470 倍。

得出菊花提取物稀释不同倍数与孢子囊萌发率的拟和方程: $y = -0.00039x + 0.9117 (R^2 = 0.9535)$ 。根据方程可计算菊花提取物抑制番茄晚疫病病菌孢子囊萌发的有效中浓度为稀释 1 055 倍。

3 讨论和结论

试验采用了菊花的乙醇提取物研究它对番茄晚疫病病菌的影响。结果表明, 温度在 40~90 $^{\circ}$ C 之间菊花提取物的抑菌效果和化学对照差异不显著; 光照强度在 6 000~80 000 lx 之间处理 72 h 菊花提取物的抑菌效果和化学对照差异不显著。由此可以得出菊花提取物的抑菌活性成分对环境的适应性很强, 作为植物源杀菌剂的开发具有很好物质的基础。

自然界中很多植物的组成成分和代谢产物都有很好的抑菌作用, 而且它是源于植物, 容易分解, 对环境不易造成污染, 因此具有研究价值。但与化学杀菌剂相比防效较低, 主要是由于试验所采用的植物提取物都是粗提物尚未形成剂型, 而且测试浓度较高。因此, 如何改进提取工艺以及进行剂型加工提高其防治效果, 有待进一步研究。

参考文献

- [1] 吴轶青(译). 使用天然抗菌化合物保护作物[J]. 农药译丛, 1996, 18(3): 9-12.
- [2] 操海群, 岳永德, 彭振华, 等. 毛竹提取物的抑菌活性及其有效成分的初步分离[J]. 植物病理学报, 2005, 35(5): 428-433.
- [3] 刘徽, 朱小平, 高书国, 等. 丝瓜伤流液对葡萄孢的抑菌活性[J]. 植物病理学报, 2004, 34(3): 280-282.
- [4] 张金林, 常志宽, 李维宽. 植物性杀菌剂研究进展[J]. 河北农业大学学报, 1998, 21(3): 112-115.
- [5] 陈秀蓉, 魏永良. 几种新型杀菌剂对瓜类蔓枯病菌的毒力测定[J]. 甘肃农业大学学报, 1998, 33(4): 413-416.

Inhibitory Efficacy of *Dendronthema orifolium* (Ramat) Tzvel Extracts on the *Phytophthora infestans*

CAO Jing¹, DUAN Ying-zhi², MA Yan-zhi²

(1. School of Agricultural Science, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong, 252059, China; 2. Department of Biology, Tangshan Teacher's College, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: The effect of *Dendronthema orifolium* (Ramat) Tzvel ethanol extract on hyphae growth, spore germination were measured in comparison with 80% ethanol metalaxyl and which was used as control, and the effect of radiant intensity and temperature on the inhibitory efficacy of *Dendronthema orifolium* (Ramat) Tzvel ethanol extract were also tested. The results showed that the ED50 of *Dendronthema orifolium* (Ramat) Tzvel ethanol extract to hyphae growth and spore germination was 470 times dilution and 1 055 times dilution, radiant intensity (6 000~80 000 lx) and temperature (40~90 $^{\circ}$ C) had no effect on inhibitory efficacy of *Dendronthema orifolium* (Ramat) Tzvel ethanol extracts.

Key words: *Dendronthema orifolium* (Ramat) Tzvel; Plant extracts; *Phytophthora infestans*; Inhibitory efficacy