

迷迭香精油对几种植物病原菌的抑菌活性研究

赵 杰, 倪秀红

(上海市南汇区种植业技术推广中心 上海 201300)

摘 要: 采用生长速率法和抑菌圈法测定了迷迭香精油对甜瓜蔓枯病菌、西瓜炭疽病菌、甜瓜灰霉病菌、甜瓜枯萎病菌、梨树腐烂病菌、柑橘黑腐病菌、油菜菌核病菌、蚕豆轮纹病菌和桃细菌性穿孔病菌的抑菌活性。结果表明: 迷迭香精油对 8 种病原真菌都具有很好的抑菌活性, 其 EC_{50} 分别为 843.9914、1 084.2372、483.9457、1 735.5866、1 011.7869、901.2150、356.8803、1 197.3657 $\mu\text{L/L}$; 对桃细菌性穿孔病菌也具有一定的抑菌活性, 浓度为 100 mL/L 时, 抑菌圈直径为 1.00 cm, 最低抑菌浓度为 1 000 $\mu\text{L/L}$ 。

关键词: 迷迭香; 精油; 病原菌; 抑菌活性

中图分类号: S 482.2⁺92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)09-0033-03

迷迭香为唇形科迷迭香属常绿亚灌木, 原产于地中海地区。迷迭香精油具有很好的抗菌活性, 目前关于迷迭香精油的抑菌活性的研究主要集中在医学领域¹⁻³, 而用于防治植物病原菌的研究较少报道。该文对迷迭香精油进行了植物病原菌的抑菌活性研究, 以期为开发利用精油提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物精油 迷迭香(*Rosmarinus Officinalis* L.)精油, 6 月份采集迷迭香茎叶, 采用水蒸馏法提取⁴。

1.1.2 供试病原菌 甜瓜蔓枯病菌(*Mycosphaerella melonis* (Pass.) Chiu et Walker)、西瓜炭疽病菌(*Colletotrichum orbiculare*)、甜瓜灰霉病菌(*Colletotrichum orbiculare*)、甜瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis*)、梨树腐烂病菌(*Valsa ambiens* (Pers.) Fr.)、柑橘黑腐病菌(*Alternaria citri*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary)、蚕豆轮纹病菌(*Cercospora fabae*)和桃细菌性穿孔病菌(*Xanthomonas pruni* (Smith) Down)均从南汇区田间采集, 经室内组织分离、纯化所得⁵。

1.2 试验方法

1.2.1 对 8 种病原真菌的抑菌活性 将精油用丙酮配制成一定浓度的溶液, 采用生长速率法进行生物测定⁶⁻¹⁰; 于灭菌好的 49 mL PDA 培养基内, 加入 1 mL 丙

酮溶液, 充分摇匀, 分装到 3 个直径为 9 cm 的培养皿中, 使精油在培养基中的浓度分别为 2 000、1 000、500、200、100 $\mu\text{L/L}$, 以加丙酮为对照; 待培养基冷却凝固后, 将直径为 1 cm 的病菌菌丝块放在含药培养基中央, 每皿 1 块, 于 24~25 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内培养 3~7 d, 测量菌落直径、计算抑制率、以精油在培养基中的浓度为测试浓度计算回归方程和抑制中浓度 EC_{50} 。

1.2.2 对桃细菌性穿孔病菌的抑菌活性及最低抑菌浓度的测定 抑菌活性采用抑菌圈法^{9, 11-13}进行生物测定: 将病原细菌于牛肉浸膏培养基上培养 3 d 后, 用 5 mL 无菌水洗下并配制成细菌悬浮液; 在直径为 9 cm 的培养皿内加入 1.5 mL 菌液, 再加入牛肉浸膏培养基 (45 $^{\circ}\text{C}$ 左右), 混匀后制成平板; 将精油用丙酮配制成浓度为 100、50、25、10、5 mL/L 的溶液, 将直径为 5 mm 的灭菌滤纸片在不同浓度的精油溶液中浸 1 min, 取出自然风干后, 放置在培养基中央, 每皿 1 片, 重复 3 次; 于 27~28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内培养 2 d, 测量抑菌圈直径。最低抑菌浓度的测定采用连续稀释法¹⁴: 将精油用丙酮配制成一定浓度的溶液; 于灭菌好的 49 mL PDA 培养基内, 加入 1 mL 丙酮溶液, 充分摇匀, 分装到 3 个直径为 9 cm 的培养皿中, 使精油在培养基中的浓度分别为将精油用丙酮配制成浓度为 2 000、1 000、500、250、125、62.5、31.25 $\mu\text{L/L}$ 的溶液, 以加丙酮和无菌水为对照; 待培养基冷却凝固后, 平板划线接种; 于 27~28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内培养 2 d, 以完全没有菌落生长的精油浓度为最低抑菌浓度 (MIC, minimum inhibitory concentration)。

2 结果与分析

2.1 迷迭香精油对 8 种病原真菌的抑菌活性

不同浓度的迷迭香精油对甜瓜蔓枯病菌、西瓜炭疽病菌、甜瓜灰霉病菌、甜瓜枯萎病菌、梨树腐烂病菌、柑

第一作者简介: 赵杰(1979-), 男, 硕士, 农艺师, 现主要从事植物栽培与植保方面的研究工作。E-mail: zhaocaoyou@163.com。

基金项目: 上海市南汇区科学技术发展基金资助项目(NKNF0804)。

收稿日期: 2009-03-20

橘黑腐病菌、油菜菌核病菌和蚕豆轮纹病菌病原真菌的菌落生长都具有显著的抑制作用,当浓度达到 1 000 $\mu\text{L/L}$ 时,能够完全抑制甜瓜灰霉病菌、梨树腐烂病菌和油

菜菌核病菌的生长,表现出很高的抑菌活性(表 1)。另外,迷迭香精油对甜瓜灰霉病菌和油菜菌核病菌的毒力最高,其 EC_{50} 分别为 483.9457、356.8803 $\mu\text{L/L}$ (表 2)。

表 1 生长速率法测定不同浓度精油的菌落直径

病菌 Pathogenic fungi	不同浓度下的菌落直径 Fungus diameter under different concentrations/ cm					
	2 000 $\mu\text{L/L}$	1 000 $\mu\text{L/L}$	500 $\mu\text{L/L}$	200 $\mu\text{L/L}$	100 $\mu\text{L/L}$	丙酮 Acetone
甜瓜蔓枯病菌 <i>M. melonis</i>	0.44 0.76e	2.71 0.53d	4.25 0.43c	6.76 0.40b	8.15 0.70a	8.60 0.00a
西瓜炭疽病菌 <i>C. orbiculare</i>	1.30 0.04e	2.39 0.29d	4.10 0.18c	5.23 0.04b	6.00 0.36a	6.12 0.31a
甜瓜灰霉病菌 <i>C. orbiculare</i>	0.00 0.00d	0.00 0.00d	1.00 0.00c	1.42 0.03b	1.79 0.44a	2.00 0.28a
甜瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>Melonis</i>	3.07 0.08e	5.03 0.04d	6.17 0.31c	6.68 0.04b	6.85 0.06b	7.18 0.10a
梨树腐烂病菌 <i>V. ambiens</i>	0.00 0.00f	2.06 0.04e	2.54 0.12d	3.04 0.06c	3.17 0.05b	3.52 0.05a
柑橘黑腐病菌 <i>A. citri</i>	1.00 0.00e	1.89 0.38d	2.61 0.13c	2.80 0.25c	3.53 0.58b	4.70 0.02a
油菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	0.00 0.00d	0.00 0.00d	1.10 0.10c	1.16 0.16c	1.96 0.15b	2.84 0.30a
蚕豆轮纹病菌 <i>C. fabae</i>	1.61 0.11e	2.54 0.45d	3.14 0.22c	3.89 0.13b	4.42 0.27b	5.12 0.45a

表 2 生长速率法测定不同浓度精油的毒力

病菌 Pathologic fungi	不同浓度下的抑菌率 Inhibition rate under different concentrations/ %					回归方程 / Regression equation	相关系数 <i>r</i>	EC_{50} / $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$
	2 000 $\mu\text{L/L}$	1 000 $\mu\text{L/L}$	500 $\mu\text{L/L}$	200 $\mu\text{L/L}$	100 $\mu\text{L/L}$			
甜瓜蔓枯病菌 <i>M. melonis</i>	94.88	68.49	50.58	21.40	5.23	$Y=10.3324+0.0470x$	0.9494	843.9914
西瓜炭疽病菌 <i>C. orbiculare</i>	78.76	60.95	33.01	14.54	1.96	$Y=5.6547+0.0409x$	0.9588	1084.2372
甜瓜灰霉病菌 <i>C. orbiculare</i>	100.00	100.00	50.00	29.00	10.50	$Y=2.7669+0.0976x$	0.9952	483.9457
甜瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>Melonis</i>	57.24	29.94	14.07	6.96	4.60	$Y=0.8829+0.0283x$	0.9993	1735.5866
梨树腐烂病菌 <i>V. ambiens</i>	100.00	41.48	27.84	13.14	9.94	$Y=2.0413+0.0474x$	0.9928	1011.7869
柑橘黑腐病菌 <i>A. citri</i>	78.72	59.79	44.47	40.42	24.89	$Y=21.0710+0.0321x$	0.8934	901.2150
油菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	100.00	100.00	61.27	59.15	30.98	$Y=19.8793+0.0844x$	0.9135	356.8803
蚕豆轮纹病菌 <i>C. fabae</i>	68.55	50.39	38.67	24.02	13.67	$Y=13.0014+0.0309x$	0.9369	1197.3657

2.2 迷迭香精油对桃细菌性穿孔病菌的抑菌活性及最低抑菌浓度的测定

活性,当浓度为 100 mL/L 时,抑菌圈直径为 1.00 cm (表 3),对桃细菌性穿孔病菌的最低抑菌浓度 MIC 为 1 000 $\mu\text{L/L}$ (表 4)。

表 3 迷迭香精油对桃细菌性穿孔病菌具有一定的抑菌活性
表 3 迷迭香精油对桃细菌性穿孔病菌的抑菌活性

The inhibition actiçty of <i>R. Officinalis</i> essential oils against <i>X. pruni</i>						
浓度 Concentration/ $\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$	100	50	25	10	5	丙酮 Acetone
抑菌圈直径 Inhibition diameter/ cm	1.00 \pm 0.23b	0.57 \pm 0.12a	0.50 \pm 0.00a	0.50 \pm 0.00a	0.50 \pm 0.00a	0.50 \pm 0.00a

表 4 迷迭香精油对桃细菌性穿孔病菌的最低抑菌浓度

MIC of <i>R. Officinalis</i> essential oils against <i>X. pruni</i>							
浓度 Concentration / $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$	2 000	1 000	500	250	125	62.5	31.25
抑菌效果 Inhibition effect	-	-	+	++	+++	+++	+++

注 - 表示无菌落, + 表示少量菌落, ++ 表示菌落较多, +++ 表示大量菌落。
Note: - means no microorganisms; + means a few microorganisms; ++ means many microorganisms but countable; +++ means a lot of microorganisms and uncountable.

3 讨论
通过对迷迭香精油抑菌试验,发现迷迭香精油对 8 种植物病原真菌都具有很高的抑菌活性,当浓度达到 1 000 $\mu\text{L/L}$ 时,能够完全抑制甜瓜灰霉病菌、梨树腐烂病菌和油菜菌核病菌等 3 种病菌的生长,表现出很高的抑菌活性;另外,迷迭香精油对甜瓜灰霉病菌和油菜菌核病菌的毒力最高,其 EC_{50} 分别为 483.9457、356.8803 $\mu\text{L/L}$ 。

迷迭香精油对桃细菌性穿孔病菌的抑菌活性测定表明,当培养基中的精油浓度达到 1 000 $\mu\text{L/L}$ 可以完全抑制细菌的生长,而抑菌圈法表明,精油浓度达到 100 mL/L 时才表现出明显的抑菌作用,其原因可能是因为抑菌圈法中精油在培养基中不容易渗透或扩散,而人工将精油与培养基混合后分布相对均匀造成的,这方面还有待于进一步研究与改进。

目前,研究中多以直接利用提取出的植物精油来防治病虫害,而植物精油是一种混合物,其有效活性成分及其剂型等还有待于进一步研究。另外,虽然精油对病原菌都表现出不同的抑菌作用,但其在田间的防治效果尚需进一步研究。

参考文献

[1] 吴传茂,吴周和,何霁辉.迷迭香提取物的抑菌活性研究[J].广州食

品工业科技 2000 16(3):4-6

[2] 程伟贤,陈鸿雁,张义平,等. 迷迭香提取物抑菌作用研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(5): 406-408.

[3] 徐勇,姚雷,张艳玲,等. 三种迷迭香植物学性状和精油成分研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2006, 24(5): 429-434.

[4] 杨森艳,姚雷. 柠檬草精油抗菌性研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2005, 23(4): 374-376, 382.

[5] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 农业出版社 1979 116, 163.

[6] 陆佩,顾振芳,代光辉,等. 黄瓜蔓枯病生物学特性及室内药剂筛选[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2003, 21(3): 226-231.

[7] 康天芳. 几种杀菌剂对甜瓜蔓枯病的室内毒力测定[J]. 甘肃农业大学学报 2003 37(1): 78-81.

[8] 陈秀蓉,魏勇良. 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 32(3): 413-416.

[9] 黄彰欣,黄端平,郑仲,等. 植物化学保护实验指导[M]. 北京: 农业出版社 1993 52 61.

[10] 赵杰,周超英,顾振芳. 几种杀菌剂对甜瓜枯萎病菌的室内毒力测定[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2006 24(4): 386-388, 393.

[11] 冯明祥,王佩圣,姜瑞德,等. 克菌康等生物杀菌剂防治桃细菌性穿孔病研究[J]. 中国果树 2003(6): 5-7.

[12] 蒲金基,刘晓妹,谢艺贤. 香蕉黑星病室内药剂筛选[J]. 农药 2006 45(4): 284-286.

[13] 郭艳,高智谋,伍万荣,等. 卡松对几种重要植物病原菌的抑制活性[J]. 2006 45(9): 634-635.

[14] 叶舟,林文雄,陈伟,等. 杉木心材精油抑菌活性及其化学成分研究[J]. 应用生态学报 2005 16(12): 2394-2398.

Inhibition Activity of *Rosmarinus Officinalis* L. against Several Phytopathogenic Fungi

ZHAO Jie NI Xiu-hong

(Shanghai Nanhui District Planting Technology Extension Center, Shanghai 201300, China)

Abstract: By the mycelium growth rate and inhibition zone rate methods, the inhibition activities of *Rosmarinus Officinalis* L. essential oil against *Mycosphaerella melonis* (Pass.) Chiu et Walker, *Colletotrichum orbiculare*, *Colletotrichum orbiculare*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis*, *Valsa ambiens* (Pers.) Fr, *Alternaria citri*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary, *Cercospora fabae* and *Xanthomonas pruni* (Smith) Down were tested. The results showed that *C. citratus* essential oil had good inhibition effects on 8 fungi and EC_{50} 843. 9914, 1 084. 2372, 483. 9457, 1 735. 5866, 1011. 7869, 901. 2150, 356. 8803, 1 197. 3657 μ L/L respectively. In addition, *C. citratus* essential oil had inhibition effect on *X. pruni*. The inhibition diameter was 1.00 cm at the concentration of 100 mL/L and MIC was 1 000 μ L/L.

Key words: *Rosmarinus Officinalis* L.; Essential oil; Phytopathogenic Fungi; Inhibition activity

欢迎订阅 2010 年《大豆科学》

《大豆科学》是由黑龙江省农业科学院主管主办国内公开发行的我国大豆专业领域学术性期刊,也是被国内外多家重要数据库和文摘收录源收录的重点核心期刊,反映大豆科学研究的最新成果。主要刊登有关大豆遗传育种、品种资源、生理生态、耕作栽培、植物保护、营养肥料、生物技术、食品加工、药用功能及工业用途等方面的学术论文、科研报告、研究简报、国内外研究述评、学术活动简讯和新品种介绍等。

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作

者,大专院校师生、各级农业技术推广部门的技术人员及科技种田的农民。

国内外公开发行,双月刊,16开本,每期180页。国内每期订价:10.00元,全年60.00元,邮发代号:14-95。国外每期订价:10.00美元(包括邮资),全年60美元。国外由中国国际图书贸易总公司发行,北京399信箱。国外代号:Q5587。

本刊热忱欢迎广大科研及有关企事业单位刊登广告,广告经营许可证号:2301030000004。

地 址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《大豆科学》编辑部 邮 编:150086
电 话:0451-86668735 E-mail: dadoukx@sina.com ddkexue@126.com