

# 竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物对烟草青枯病菌的室内抑制效果

许灵杰<sup>1</sup>, 蒋岁寒<sup>2</sup>, 赵二卫<sup>3</sup>, 杨双剑<sup>3</sup>

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193; 2. 南京农业大学 资源与环境科学学院, 江苏 南京 210014;  
3. 毕节市烟草公司威宁县分公司, 贵州 毕节 553100)

**摘要:**通过室内抑菌试验,研究了竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物对烟草青枯病菌的抑制作用,并进一步揭示竹醋液的增效原理。结果表明:竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物对青枯菌具有显著抑制效果,均达到99%以上;同时竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物络合可能生成新物质,起到增效作用,其中洋葱提取物的增效比较明显。因此,竹醋液复合洋葱提取物可以作为一种新型绿色药剂,对烟草青枯病菌具有一定防效。

**关键词:**烟草;青枯病菌;竹醋液;洋葱提取物;鱼腥草提取物;抑制作用

**中图分类号:**S 482.2<sup>+</sup>92 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0120-05

烟草青枯病又称“烟瘟”或“半边疯”,属于典型的维管束病害<sup>[1]</sup>。该病常爆发于我国南方烟区,以湖南、四川、贵州等烟区危害较为严重,造成毁灭性经济损失<sup>[2]</sup>。目前,关于烟草青枯病的防治主要从提高烟株抗性<sup>[3]</sup>、实行轮作制度<sup>[4]</sup>、常规化学农药防治<sup>[5]</sup>以及生物防治等方面入手<sup>[6]</sup>。但是以上技术仍然存在一些问题,例如,由于我国农用耕地存在分布细碎化严重,以及人多地少等难题,导致多数烟区无法正常落实轮作制度<sup>[7]</sup>。另外,据资料显示<sup>[8]</sup>,由于长期大量使用化学农药(农用链霉素),导致病原菌产生一定抗药性,从而降低药效,进而导致用药量和次数的增加。这不仅增加经济成本,而且严重破坏生态环境的健康,引起“3R”等问题。因此,寻找一种绿色、高效、安全的制剂对我国烟草行业的可持续健康发展具有重要意义。竹醋液是一种纯天然、绿色、无毒的药肥,它不仅具有能够促进农作物种子萌发、生根和生长的作用,而且具有杀菌、抗菌能力<sup>[9]</sup>。李伶俐等<sup>[10]</sup>研究表明在蘑菇栽培料中添加0.1%~0.2%的竹醋液能够起到增产效果。蒋新龙<sup>[11]</sup>研究表明竹醋液对大肠杆菌、金黄葡萄球菌杀灭率高达99.98%。吴暄等<sup>[12]</sup>研究指出喷施300倍的醋蜜混合液不仅能够促进

黄瓜的生长而且可以控制蚜虫的危害。以上学者研究均表明竹醋液是一种高效、绿色的杀菌、促生剂。还有资料显示<sup>[13]</sup>,竹醋液与其它药物辅配后可产生明显的增效作用。据罗敏等<sup>[14]</sup>研究显示竹醋液与黄连、厚朴复配后产生明显的增效作用。而且已有研究表明<sup>[15-16]</sup>,大蒜粗提物和提取液对烟草青枯病菌有明显的抑制作用,且随着大蒜提取物的浓度增加而增强。关于竹醋液及其复合制剂用于烟草的细菌性病害防治的研究尚鲜见报道;现将具有杀菌作用的洋葱、鱼腥草提取物分别与竹醋液进行辅配,探索能否起到双重作用,增强药效,同时进一步阐述原因。旨在寻找有效、绿色、安全的制剂,以期烟草病害防治中替代化学药剂的筛选提供理论和技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

烟草青枯病菌(茄科劳尔氏菌)由贵州省烟草科学研究院提供;竹醋液购于遂昌武太郎竹炭有限公司;洋葱、鱼腥草购于当地农贸市场。TTC培养基:葡萄糖10 g、蛋白胨5 g、牛肉膏3 g、酵母粉0.5 g、琼脂20 g、5 mL/L TTC、去离子水1 000 mL。UV-1901型紫外可见分光光度计。

### 1.2 试验方法

1.2.1 植物源提取物 收集到的鱼腥草、洋葱经60℃烘干24 h,用微型破碎机粉碎过筛后,分别称取6 g植物粉溶于50℃、2%的丙酮提取溶剂中,常温25℃、

**第一作者简介:**许灵杰(1990-),男,硕士研究生,研究方向为有机农业。E-mail:xljrichard@163.com.

**责任作者:**杨双剑(1978-),男,博士,助理研究员,现主要从事烟草优质生产及生理生态等研究工作。E-mail:ysj318@163.com.

**收稿日期:**2014-11-10

200 r/min振荡浸泡提取 24 h 后。用滤纸过滤提取液,并用 2%的丙酮定容至 100 mL。鱼腥草提取物 pH 5.35,洋葱提取物 pH 4.59。

1.2.2 菌液处理 利用紫外分光光度计在 600 nm 波长下测定青枯菌菌液 OD 值为 0.123。青枯菌菌液 OD 值为 0.123 时,无菌水处理的菌落成片生长,无法计数;将菌液 OD 值降为 0.02 时,各药剂处理均无青枯菌菌落产生,无法计数。因此,各药剂处理按照菌液 OD 值为 0.123,无菌水处理按照在 OD 值为 0.123 基础下,稀释  $10^4$  倍和  $10^5$  倍。

1.2.3 竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物对青枯病菌的抑制作用 试验设竹醋液复合洋葱提取物分别稀释为 50、100、200、400 倍,即 ZC50、ZC100、ZC200、ZC400,竹醋液复合鱼腥草提取物稀释为 50、100、200、400 倍,即 ZY50、ZY100、ZY200、ZY400,共 8 个处理,以无菌水(CK<sub>1</sub>)、竹醋液(CK<sub>2</sub>)为对照。其中,无菌水处理菌落生长数据取菌液稀释  $10^4$  倍和  $10^5$  倍的平均值,再换算为原液菌落数,参照稀释涂布的方法。在无菌室中,将青枯菌菌液分别与各药剂处理按照体积比为 1:1 均匀混合,静置 3 min 后,取 100  $\mu$ L 菌药混合液移入 TTC 培养基平板上,用涂布棒涂抹均匀,置于 30℃ 恒温箱中培养,48 h 后检测青枯菌菌落数,每个处理重复 3 次。

1.3 项目测定

1.3.1 计算各处理抑菌率和增效率 抑菌率(%)=(无菌水处理菌落数-各药剂处理菌落数)/无菌水处理菌落数 $\times 100\%$ ,增效率(%)=(竹醋液处理菌落数-各药剂处理菌落数)/竹醋液处理菌落数 $\times 100\%$ 。

1.3.2 菌落计数与抑菌圈测定 通过 HICC 自动菌落计数与抑菌圈测定仪,拍摄各处理的实际抑菌图片。

1.3.3 pH 值测定 通过电磁 PHS-3C,测定各处理 pH 值。

1.3.4 新物质检测 通过将稀释  $10^3$  倍的竹醋液、洋葱提取液、鱼腥草提取液、竹醋液复合洋葱提取物(体积比为 1:1)、竹醋液复合鱼腥草提取物(体积比为 1:1)进行紫外全波段(190~900 nm)扫描,定性检测是否有新物质生成。

1.4 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2003 绘制图表和 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析,采用 Tukey s-b(K)法。

2 结果与分析

2.1 竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物对青枯菌抑制表现

从表 1 和图 1 可以看出,竹醋液及竹醋液复合洋

葱、鱼腥草提取物对青枯菌菌落生长的抑制作用表现显著,均高达 99%以上,其中 ZC50 表现最好;竹醋液复合洋葱及鱼腥草提取物的抑菌效果均高于竹醋液处理,除 ZY400 外,均达到差异显著水平;竹醋液复合洋葱提取物的抑菌效果比竹醋液复合鱼腥草提取物增强,同时二者的抑菌能力均呈现出随着洋葱、鱼腥草提取物所占比例的增加而提高的趋势。因此,由以上分析说明,竹醋液及竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物均能够有效抑制该菌落的生长,同时,竹醋液还具有一定的增效作用。

表 1 各处理对青枯菌抑制效果及增效表现

Table 1 The inhibition and synergie effect of different treatments on *Ralstonia solanacearum*

处理	菌落数	抑菌率	增效率
Treatment	Number of colonies/个	Inhibition rate/%	Increase efficiency/%
CK <sub>1</sub>	(60.667 $\pm$ 3.283) $\times 10^5$ a	—	—
CK <sub>2</sub>	10.000 $\pm$ 0.577b	99.99	—
ZC50	1.000 $\pm$ 0.577e	100.00	90.00
ZC100	3.667 $\pm$ 0.333d	99.99	63.33
ZC200	5.333 $\pm$ 0.667cd	99.99	46.67
ZC400	5.667 $\pm$ 0.667cd	99.99	43.33
ZY50	5.333 $\pm$ 0.882cd	99.99	46.67
ZY100	5.667 $\pm$ 0.667cd	99.99	43.33
ZY200	6.667 $\pm$ 0.333c	99.99	33.33
ZY400	7.667 $\pm$ 0.667bc	99.99	23.33

注:不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Note: Different lowercase letters show significant difference at 0.05 level.

2.2 各处理 pH 值表现

由表 2 可以看出,各处理之间 pH 值均小于 3.0,其中竹醋液(CK<sub>2</sub>)最低,竹醋液复合洋葱提取物的 pH 值呈现为 ZC50>ZC100>ZC200(ZC400),同时竹醋液复合鱼腥草提取物的 pH 值与前者呈现相似规律。因此,从以上分析说明,竹醋液及竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物的 pH 值表现为较强的酸性,其中各处理的 pH 值差异不大。

表 2 各处理 pH 值

Table 2 The pH value of different treatments

处理	pH 值
Treatment	pH value
CK <sub>2</sub>	2.94
ZC50	2.98
ZC100	2.97
ZC200	2.96
ZC400	2.96
ZY50	2.97
ZY100	2.96
ZY200	2.95
ZY400	2.95



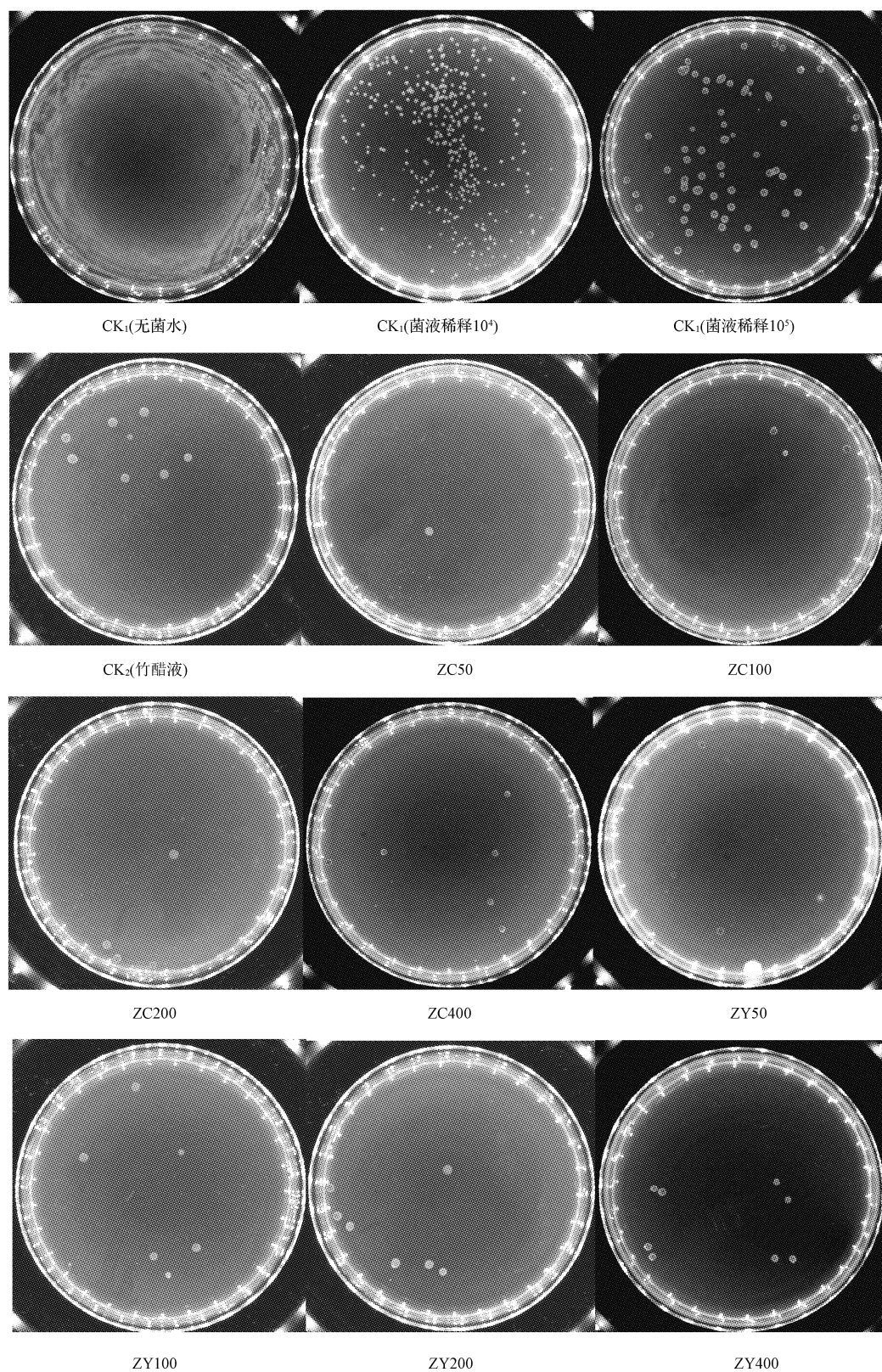


图1 各处理对青枯菌抑制效果

Fig.1 The inhibition effect of different treatments on *Ralstonia solanacearum*



### 2.3 紫外吸光度扫描结果

由图 2 可知,根据紫外分光光度计扫描原理可知,具有共轭结构或有生色团的分子会产生吸收峰。竹醋液是一种复杂的混合物,其主要成分包括有机酸、酚类、酮类、醇类等,同时洋葱主要成分包括多种脂肪烃类、萜类、类黄酮化合物等<sup>[17-18]</sup>,二者符合紫外扫描产生峰值原理。因此,竹醋液复合洋葱提取物与 2 种单物质相比较,主要体现在一方面产生了几处新的波峰,例如,在 205 nm 和 269 nm 处产生了 2 个新的波峰,吸光度分别为 2.284 和 0.715;另一方面 2 种单物质原有部分峰值消失。例如,竹醋液在 198 nm 和洋葱提取物在 191 nm 处的波峰消失。因此,说明竹醋液和洋葱提取物络合可能生成新物质,但具体是什么尚不清楚。

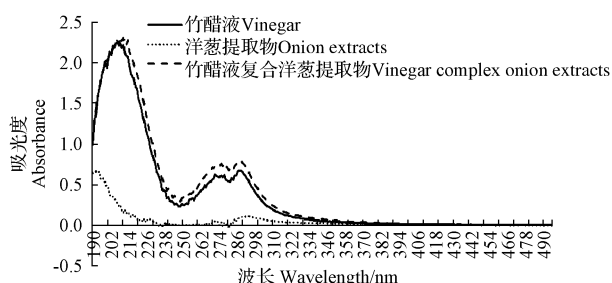


图 2 竹醋液、洋葱提取物、竹醋液复合洋葱提取物的紫外吸收光谱

Fig. 2 The absorption spectra of vinegar, onion extracts, vinegar and onion composition's extracts

鱼腥草也是一种复杂的混合物,主要成分含有黄酮类、有机酸、生物碱等<sup>[19]</sup>。从图 3 可以看出,竹醋液复合鱼腥草提取物与 2 种单物质相比较,主要体现在 2 种单物质部分原共有峰值消失。例如,在 201 nm 和 245 nm 时,竹醋液峰值吸光度分别为 2.138 和 0.271,鱼腥草提取物峰值吸光度分别为 0.227 和 0.007,而复合液没有波峰,吸光度分别为 2.128 和 0.285。同时,复合液在波长为 216、247、279 nm 处产生了 3 个新的波峰,吸光度为

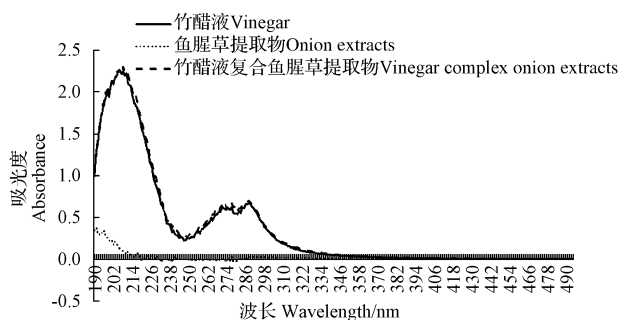


图 3 竹醋液、鱼腥草提取物、竹醋液复合鱼腥草提取物的紫外吸收光谱

Fig. 3 The absorption spectra of vinegar, houttuynia extracts, vinegar and houttuynia composition's extracts

1.952、0.301 和 0.634。因此,说明竹醋液和鱼腥草提取物络合可能生成新物质,但具体是什么尚不清楚。

### 3 结论与讨论

该试验初步研究了竹醋液、竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物对烟草青枯菌的抑制作用,同时进一步探索了竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物抑制增效的原因。试验表明,竹醋液以及竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物均能显著抑制青枯菌落的生长,抑制率均高达 99% 以上。并且,竹醋液复合洋葱、鱼腥草提取物的抑制效果强于竹醋液。同时,竹醋液复合洋葱提取物比复合鱼腥草提取物的抑制效果强,且二者抑制效果随着洋葱、鱼腥草提取物所占比例的增加而提高。因此,在今后的烟草病害防治工作中,可以尝试运用竹醋液复合植物源提取物来替代常规化学药剂,从而有效减少农药的使用量,对促进我国绿色(生态)烟叶的健康可持续发展具有重要意义。

有研究<sup>[20-21]</sup>表明,稀释 100 倍以下的竹醋液能够抑制生物的活性,而且稀释 100 倍的竹醋液对黄瓜霜霉病孢子的萌发具有明显的抑制作用,田间防治效果与稀释 600 倍的浓度为 72% 克露化学农药相当。沈哲红等<sup>[22]</sup>研究表明,竹醋液原液对黑曲霉、绿色木霉、橘青霉的抑制率高达 99%。这与该试验的结果表现一致,竹醋液能够显著抑制青枯菌菌落的生长。可能是因为竹醋液中含有醋酸、甲酸、丙酸、苯甲酸、苯酚、2-甲基苯酚和醛类等物质<sup>[23]</sup>具有较强的杀菌能力。

马良进等<sup>[24]</sup>和王文杰<sup>[25]</sup>研究指出,竹醋液与农药混配制剂对菌丝的生长抑制作用优于仅单一使用竹醋液,特别是甲霜灵锰锌添加竹醋液对黄瓜霜霉病具有明显的增效作用。孙剑华等<sup>[26]</sup>指出在使用相同药量的前提下,添加稀释 400 倍竹醋液,可以提高 30% 左右的防治率,与该试验结果表现一致,洋葱、鱼腥草提取物(液)本身具有良好的杀菌能力<sup>[27-28]</sup>,可以作为一种植物源杀菌剂。在此基础上,添加竹醋液形成复合制剂对青枯病菌的抑制作用强于单一使用竹醋液。这与 pH 值大小无明显关系,可能是由于两两之间络合产生了新型更有效的杀菌物质,但是具体是什么尚不清楚,值得在今后研究。

该试验仅通过室内培养皿试验来验证竹醋液及竹醋液复合洋葱(鱼腥草)提取物对烟草青枯病菌的抑制效果,但是据相关研究表明<sup>[29]</sup>如果喷施 50 倍以下的竹醋液容易产生药害,不适合用于田间生产。因此,下一步试验应该探索竹醋液与植物源药剂复合抑菌效果,以及经济成本最协调的比例,同时进行田间验证试验,为今后推广烟草绿色防控技术奠定理论和技术指导。

### 参考文献

[1] 周训军,王静,杨玉文,等. 烟草青枯病研究进展[J]. 微生物学通报,

- 2012,39(10):1479-1486.
- [2] 霍沁建,张深,王若焱.烟草青枯病研究进展[J].植物保护科学,2007,23(8):364-369.
- [3] 谈文,蒋士君,刘骏,等.烟草个体发育中营养抗性的研究综述[J].烟草科学,1999(1):46-48.
- [4] 黄福新,陈永惠,周兴华,等.烟草青枯病综合防治研究[J].广西农业科学,1997(1):32-35.
- [5] 卢洪兴,曾军,邱志丹,等.烟草青枯病发生与药剂防治研究[J].福建省农学院学报,1996,11(3):41-45.
- [6] 王金生.细菌素在植物细菌病害生防中的应用[J].生物防治通报,1985,1(2):36-40.
- [7] 张培坤.玉米青枯病防治研究[J].广西植保,1997,10(2):7-9.
- [8] 赖荣泉,赖碧添,黄光伟,等.烟草病虫害预警防灾体系的构建及其应用[C]//植物保护与现代农业.北京:中国农业科学技术出版社,2007:808-810.
- [9] 王金果.竹醋液杀菌作用的研究进展[J].安徽农业科学,2009,37(28):13473-13474,13479.
- [10] 李伶俐,应国华,吕明亮,等.竹醋液添加剂对香菇的增产效果试验[J].食用菌,2010(3):28-29.
- [11] 蒋新龙.竹醋液的生产及其应用[J].竹子研究汇刊,2004,23(4):34-37.
- [12] 吴暄,宗良纲,刘新,等.竹醋液对有机栽培黄瓜生长的影响及其对蚜虫的防治效果[J].中国生物防治,2009,25(4):309-311.
- [13] 王金果.2种竹醋液增效杀菌制剂的研制[D].合肥:安徽农业大学,2007.
- [14] 罗敏,吴良如,高文惠,等.竹醋液抑菌及增效作用的研究[J].竹子研究汇刊,2004,23(2):46-49.
- [15] 张汉千,赖荣泉,陈志敏,等.大蒜粗提物对烟草青枯病菌的室内抑制作用测定[J].烟草科技,2009(3):62-66.
- [16] 商胜华,陆宁,陈庆园,等.大蒜提取液对烟草黑胫病和青枯病的防治效果初探[J].贵州农业科学,2009,37(10):94-96.
- [17] 张文标,叶良明,刘力,等.竹醋液的组分分析[J].竹子研究汇刊,2001,20(4):72-77.
- [18] 王文亮,王世清,李晓玲,等.洋葱的活性成分药理功效及产品开发生综述[J].中国食物与营养,2013,19(11):37-39.
- [19] 杜向群,陈敏燕,许颖.鱼腥草成分、药理的研究进展[J].江西中医药,2012,43(2):66-68.
- [20] 中村和善.竹材的用途开发[M].东京:扶桑社出版司,1996:16-23.
- [21] 韦强,杜相革,黄漫青,等.竹醋液对黄瓜霜霉病防治效果的研究[J].植物保护科学,2006,22(6):330-332.
- [22] 沈哲红,方群,鲍滨福,等.竹醋液及竹醋液复配制剂对木材霉菌的抑菌性[J].浙江林学院学报,2010,27(2):99-104.
- [23] Sulaiman O, Murphy R J, Hashim R, et al. The inhibition of microbial growth by bamboo vinegar[J]. Journal Bamboo and Rattan, 2005, 14(1): 71-80.
- [24] 马良进,张昕,陈晓玲,等.竹醋液与杀菌剂混配的抑菌效果[J].东北林业大学学报,2008,36(8):41-42.
- [25] 王文杰.竹醋液促生长及对农药增效作用和防病效果的研究[D].合肥:安徽农业大学,2007.
- [26] 孙剑华,沈晓昆,陈永宁.竹(木)醋液与不同农药混配在蔬菜病虫害防治中的应用[J].长江蔬菜,2008(5b):87-89.
- [27] 桂蜀华,蒋东旭,袁捷,等.洋葱不同提取物抗真菌活性研究[J].广州中医药大学学报,2005,22(5):379-374.
- [28] 黄亮,王金龙,李方,等.鱼腥草叶乙醇提取液的抑菌作用研究[J].安徽农业科学,2012,40(2):719-722.
- [29] Mu J, Tohru U, Takeshi F. Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plants II: composition of moso bamboo vinegar at different collection temperature and its effects[J]. Journal of Wood Science. 2004, 50(5): 470-476.

## Inhibitory Effect of Vinegar Composite Onion and Houttuynia Extracts on *Ralstonia solanacearum* in Laboratory

XU Ling-jie<sup>1</sup>, JIANG Sui-han<sup>2</sup>, ZHAO Er-wei<sup>3</sup>, YANG Shuang-jian<sup>3</sup>

(1. College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193; 2. College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210014; 3. Weining County Branch Tobacco Company of Bijie City, Bijie, Guizhou 553100)

**Abstract:** Through the indoor inhibition experiment, the inhibition effect which the extracts of the vinegar and onion composition (*Houttuynia*) affect on the *Ralstonia solanacearum* were studied, and the principle of synergistic was revealed. The results showed that the extracts of the vinegar and onion composition (*Houttuynia*) had significant inhibition effect on the *Ralstonia solanacearum*, and the data reached 99% in average; at the same time, the extracts of the vinegar and onion composition (*Houttuynia*) could form the new material and enhance the effect. Among them the extracts of onion affected obviously. So the extracts of the vinegar and onion composition could be used as a new type of green pharmaceutical, it could prevent *Ralstonia solanacearum*.

**Keywords:** tobacco; *Ralstonia solanacearum*; vinegar; onion extracts; houttuynia extracts; inhibition