

# 辽细辛精油对黄瓜灰霉病的室内药效试验

马 迪, 王桂清

(聊城大学 农学院, 山东 聊城 252059)

**摘 要:**以辽细辛精油为试材, 黄瓜灰霉病菌为目标菌, 采用菌片接种法, 测定了辽细辛精油对黄瓜灰霉病的活体药效和离体药效, 以期探讨辽细辛精油的实用性, 为植物源杀菌剂的开发提供理论依据。结果表明: 辽细辛精油对黄瓜灰霉病既有保护作用也有治疗作用, 且随着精油浓度的升高药效逐渐提高; 辽细辛精油的保护作用优于治疗作用, 在活体条件下, 保护和治疗的  $EC_{50}$  分别为  $1\ 033.30\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $1\ 038.31\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 充分体现了“预防为主”的植保理念。

**关键词:**辽细辛精油; 黄瓜灰霉病; 室内药效; 保护作用; 治疗作用

**中图分类号:**S 436.421.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)23-0117-07

黄瓜灰霉病由灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)引起, 是世界性病害<sup>[1]</sup>, 可侵染 200 多种植物的花、果实及绿色组织, 造成保护地蔬菜和观赏植物严重损失。辽细辛(北细辛, *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum*(Maxim) Kitag.) 属马兜铃科细辛属一年生至多年生草本植物, 我国南北各省均有分布, 其根可供药用, 活性成分主要为挥发油(精油), 占 3% 左右, 成分复杂 25 种以上, 如基丁香酚、黄樟醚、优香芹酮、 $\alpha$ -及  $\beta$ -蒎烯、榄香脂素、细辛醚等<sup>[2]</sup>。研究证明辽细辛的主要杀菌活性成分为细辛精油, 王桂清<sup>[3]</sup>采用生长速率法测定了辽细辛精油对引起黄瓜灰霉病的灰葡萄孢菌菌丝生长的抑制作用, 结果表明辽细辛精油对灰葡萄孢菌菌丝生长的抑制作用较好,  $EC_{50}$  为  $159.98\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。为了明确辽细辛精油对黄瓜灰霉病的室内药效, 现以化学药剂啶酰菌胺为阳性对照, 采用活体植物及离体叶片接种法, 测定了辽细辛精油对黄瓜灰霉病的保护作用和治疗作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试病菌及培养 引起黄瓜灰霉病的灰葡萄孢菌(*B. cinerea*), 由聊城大学植物病理学研究室提供, 采用 PDA 培养基, 于  $(22 \pm 1)^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱(玻璃门, 自然光照)中培养 5 d, 备用。

1.1.2 供试药剂及配制 辽细辛精油: 由聊城大学植物病理学研究室提供, 用微量二甲基亚砜(不超过终体积

的 2%) 溶解后, 无菌水配制成  $2\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液, 然后用无菌水稀释成 75、150、300、600、1 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  等 5 个浓度梯度。对照化学药剂: 50% 啶酰菌胺水分散粒剂(Cantus, 德国巴斯夫公司), 配制成  $800\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  母液, 然后稀释成 25、50、100、200、400  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  5 个浓度梯度。供试药剂浓度从低到高, 其编号依次为 1、2、3、4、5。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验条件 试验于人工气候室内进行, 育苗期间温度为  $(28 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、湿度 70% 左右, 接种后温度为  $(22 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、湿度大于 90%。营养钵规格  $6.5\ \text{cm} \times 6.5\ \text{cm}$ , 内装质地均匀的营养土(北京绿之源生态科技有限公司生产)。

1.2.2 黄瓜幼苗的种植与管理 供试黄瓜种子为“津研 4 号”(济南大江种子有限公司)。将种子用温水浸种 24 h 后, 种于营养土中, 1 钵 1 株, 于人工气候室内培养至 4 片真叶期。保证黄瓜幼苗的健壮, 及时浇水, 正常管理, 病株和弱株及时清除。

1.2.3 接种 采用菌饼法进行接种。待黄瓜长至 4 片真叶期时进行接种。用直径为 0.5 cm 的打孔器将培养 5 d 的灰葡萄孢菌平板打成菌饼, 以备接种用。

1.2.4 活体防效试验 直接在黄瓜苗上进行, 保证叶片大小和叶位一致, 1 株 1 叶。保护作用: 先喷药后接种, 将内含少量吐温-20 的药剂均匀喷于叶片表面, 1 叶 1 mL, 待药液阴干, 8 h 后接种于叶正面, 1 叶 2 点, 5 次重复, 无菌水对照; 治疗作用: 先接种后喷药, 接种 8 h 后喷药。接种后的黄瓜苗放入温度为  $(22 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、湿度大于 90% 的人工气候室内生长, 接种后 3 d 内注意保湿, 以后正常管理。

1.2.5 离体防效试验 采摘大小、叶位一致的黄瓜叶片, 叶柄用棉球保湿, 叶正面向上放于铺有直径为 14 cm 湿滤纸的培养皿中。保护作用、治疗作用的接种方法和管理方法同上, 5 次重复, 无菌水对照。

### 1.3 项目测定

接种 5 d 后调查发病情况, 测量其病斑直径(十字交

**第一作者简介:**马迪(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为种植资源利用和有害生物防治。E-mail: 709357418@qq.com.

**责任作者:**王桂清(1968-), 女, 博士, 教授, 现主要从事植物保护的学与科研工作。E-mail: wangguiqing@luc.edu.cn.

**基金项目:**山东省自然科学基金资助项目(Y2008D57); 山东省自然科学基金联合专项资助项目(ZR2012CL17)。

**收稿日期:**2016-09-18

叉法),计算抑制率。病斑直径(cm)=测量值(cm)-菌饼直径(cm),抑制率(%)=(对照病斑直径平均值(cm)-处理病斑直径(cm))/处理病斑直径(cm)×100。

#### 1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 8.1 软件进行方差分析、差异显著性检验、相关分析,计算  $EC_{50}$ 、相关系数等。

## 2 结果与分析

### 2.1 辽细辛精油对黄瓜灰霉病的保护作用

室内利用黄瓜幼苗和离体叶片测定了辽细辛精油和啮酰菌胺对灰葡萄孢菌引起的黄瓜灰霉病的活体和

离体保护作用(图 1~4),接种 5 d 后,各药剂的抑菌率如图 5,抑制效果如表 1。由图 5 可以看出,无论在活体还是离体条件下,辽细辛精油和对照化学药剂啮酰菌胺对黄瓜灰霉病均有保护作用,且随着浓度的升高药效增强。从表 1 可以看出,活体条件下辽细辛精油和啮酰菌胺的  $EC_{50}$  分别为  $1\ 033.30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $345.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,前者是后者的 2.99 倍;离体条件下二者的  $EC_{50}$  分别为  $1\ 071.49\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $402.49\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,辽细辛精油是啮酰菌胺的 2.66 倍,说明辽细辛精油的药效不如化学农药啮酰菌胺,啮酰菌胺的药效是辽细辛精油的 2~3 倍。

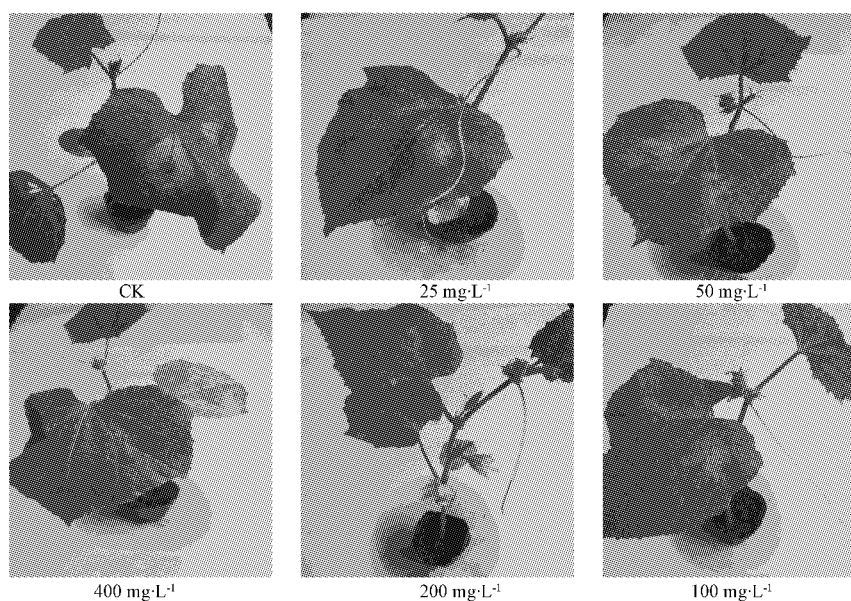


图 1 活体条件下啮酰菌胺对黄瓜灰霉病的保护作用

Fig. 1 Protective action of cantus on cucumber gray mold *in vivo*

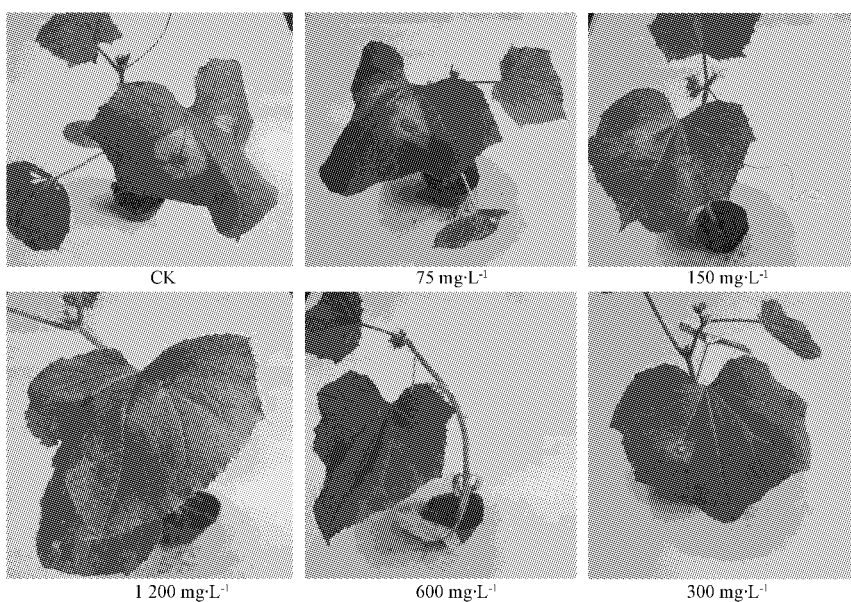


图 2 活体条件下辽细辛精油对黄瓜灰霉病的保护作用

Fig. 2 Protective action of asarum essential oils on cucumber gray mold *in vivo*

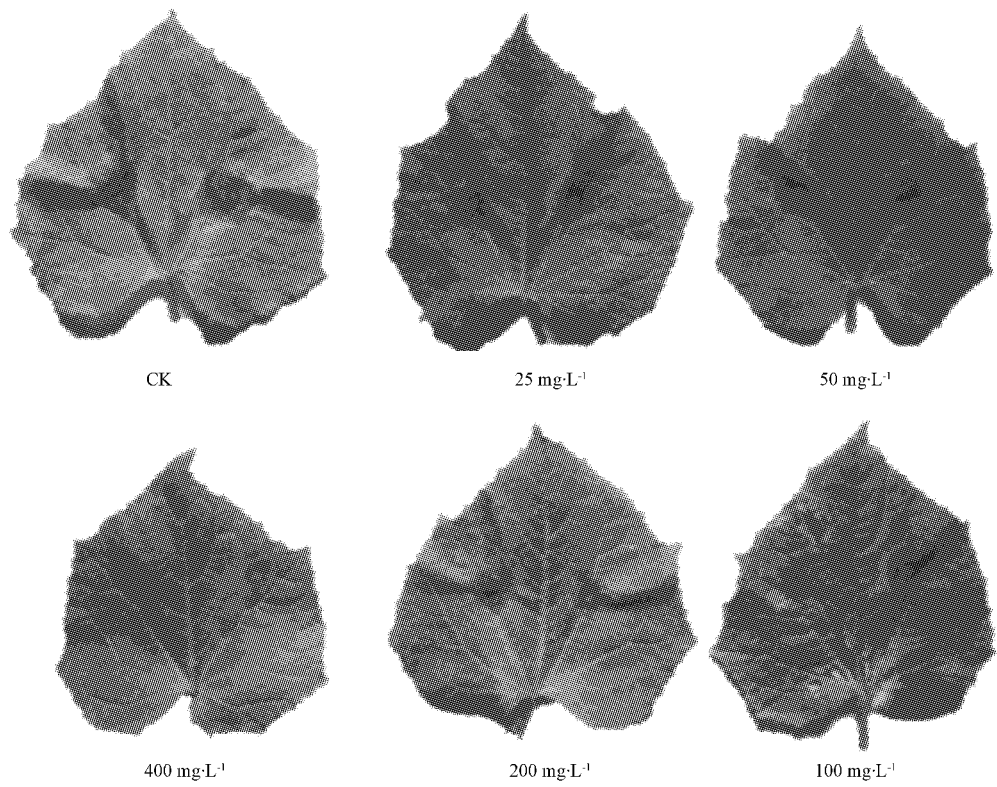


图 3 离体条件下啞酰菌胺对黄瓜灰霉病的保护作用

Fig. 3 Protective action of cantus on cucumber gray mold *in vitro*

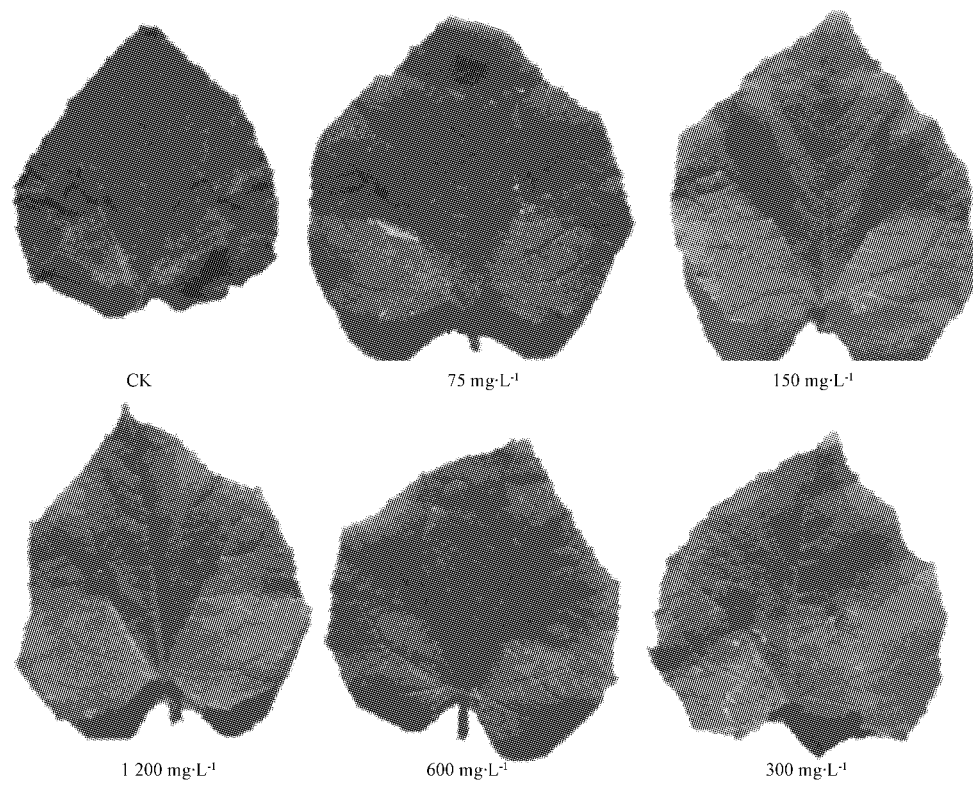


图 4 离体条件下辽细辛精油对黄瓜灰霉病的保护作用

Fig. 4 Protective action of asarum essential oils on cucumber gray mold *in vitro*

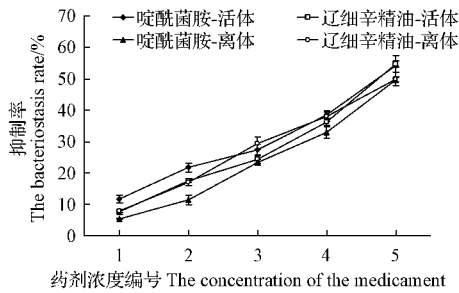


图5 辽细辛精油对黄瓜灰霉病的保护作用  
Fig. 5 Protective action of asarum essential oils on cucumber gray mold

表1 辽细辛精油对黄瓜灰霉病的保护效果

Table 1 Protective effect of asarum essential oils on cucumber gray mold

作用方式	药剂	毒力回归方程	相关系数( <i>r</i> )	EC <sub>50</sub>	95%置信区间
	Medicament	Regression equation	Correlation coefficient	/(mg • L <sup>-1</sup> )	95% confidence interval
活体 <i>in vivo</i>	啶酰菌胺 Cantus	Y=2. 397 6+1. 025 4 <i>x</i>	0. 993 4	345. 05	222. 63~534. 76
	辽细辛精油 Asarum	Y=1. 313 0+1. 223 2 <i>x</i>	0. 993 6	1 033. 30	706. 36~1 511. 63
离体 <i>in vitro</i>	啶酰菌胺 Cantus	Y=1. 564 7+1. 318 8 <i>x</i>	0. 997 7	402. 49	271. 18~597. 38
	辽细辛精油 Asarum	Y=1. 475 7+1. 163 1 <i>x</i>	0. 991 3	1 071. 49	714. 32~1 607. 36

2.2 治疗作用

辽细辛精油和啶酰菌胺对黄瓜灰霉病的治疗作用如图6~9,接种5 d后治疗作用的抑菌率如图10,抑制效果如表2。随着药剂浓度的增加治疗效果提高。活体条件下啶酰菌胺和辽细辛精油的EC<sub>50</sub>分别为361.20 mg · L<sup>-1</sup>和1 038.31 mg · L<sup>-1</sup>(后者是前者的2.87倍),离体条件下二者的EC<sub>50</sub>分别为456.62 mg · L<sup>-1</sup>和1 094.50 mg · L<sup>-1</sup>(后者是前者的2.39倍),说明辽细辛精油的药效不如化学农药啶酰菌胺,仅为啶酰菌胺的1/3~1/2。

比较保护作用和治疗作用,发现啶酰菌胺和辽细辛精油的保护作用优于治疗作用,如活体条件下,辽细辛精油保护和治疗作用的EC<sub>50</sub>分别为1 033.30 mg · L<sup>-1</sup>和1 038.31 mg · L<sup>-1</sup>,啶酰菌胺二者的EC<sub>50</sub>分别为345.05 mg · L<sup>-1</sup>和361.20 mg · L<sup>-1</sup>,进一步验证了抑/杀菌剂是以保护作用为主的,也充分体现了“预防为主”的植保理念。

比较活体效果和离体效果,发现活体效果优于离体效果,如保护作用,辽细辛精油的活体EC<sub>50</sub>为1 033.30 mg · L<sup>-1</sup>,离体EC<sub>50</sub>为1 071.49 mg · L<sup>-1</sup>(增加了3.69%);啶酰菌胺的活体EC<sub>50</sub>为345.05 mg · L<sup>-1</sup>,离体EC<sub>50</sub>为402.49 mg · L<sup>-1</sup>(增加了16.65%)。虽然活体效果优于离体效果,但离体条件下的药效趋势与活体条件下的药效趋势一致,且EC<sub>50</sub>差别不是很大,说明可用离体试验代替活体试验。

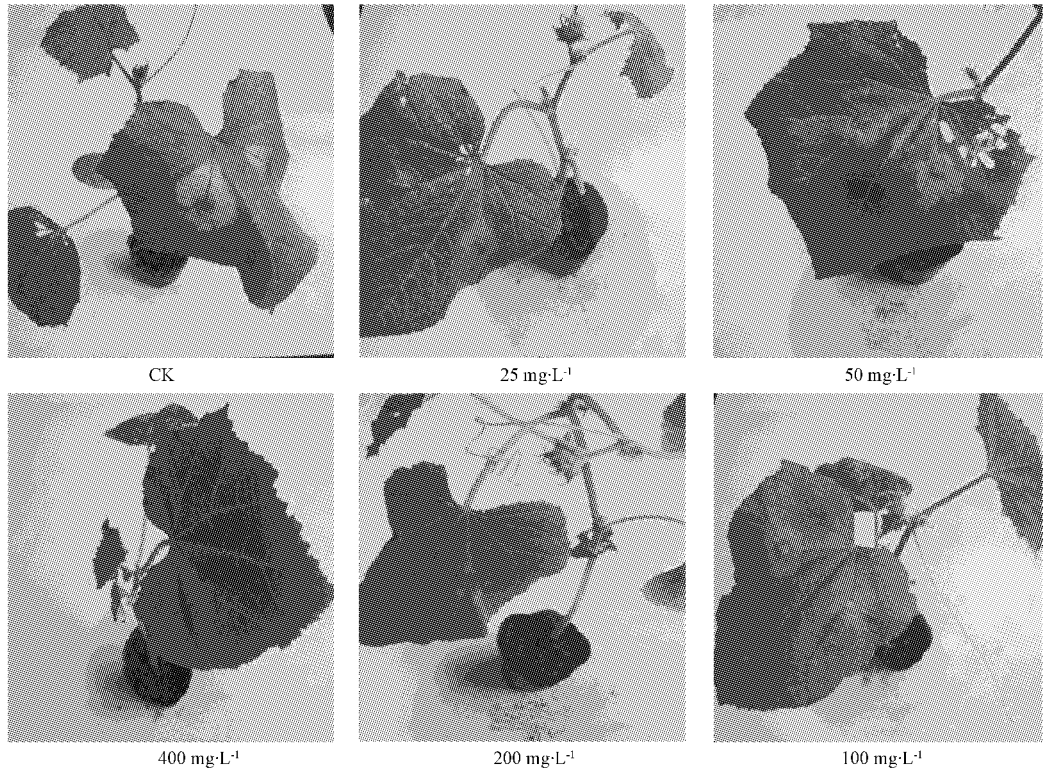


图6 活体条件下啶酰菌胺对黄瓜灰霉病的治疗作用

Fig. 6 Therapeutic action of cantus on cucumber gray mold *in vivo*

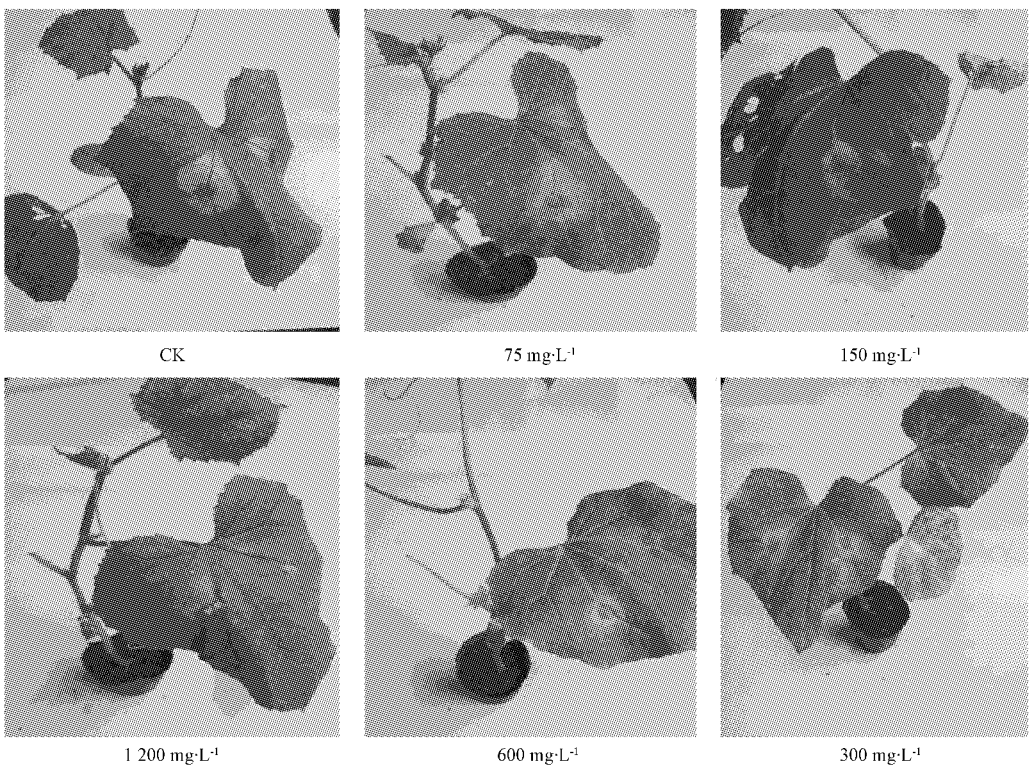


图 7 活体条件下辽细辛精油对黄瓜灰霉病的治疗作用

Fig. 7 Therapeutic action of asarum essential oils on cucumber gray mold *in vivo*

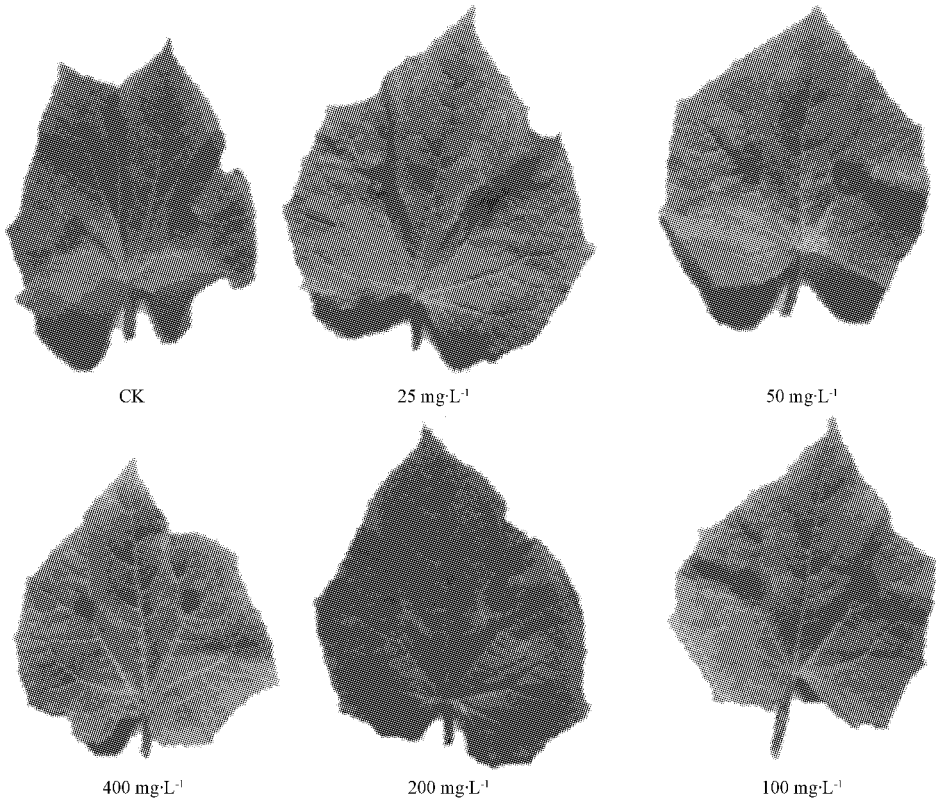


图 8 离体条件下蛇床子素对黄瓜灰霉病的治疗作用

Fig. 8 Therapeutic action of cantus on cucumber gray mold *in vitro*



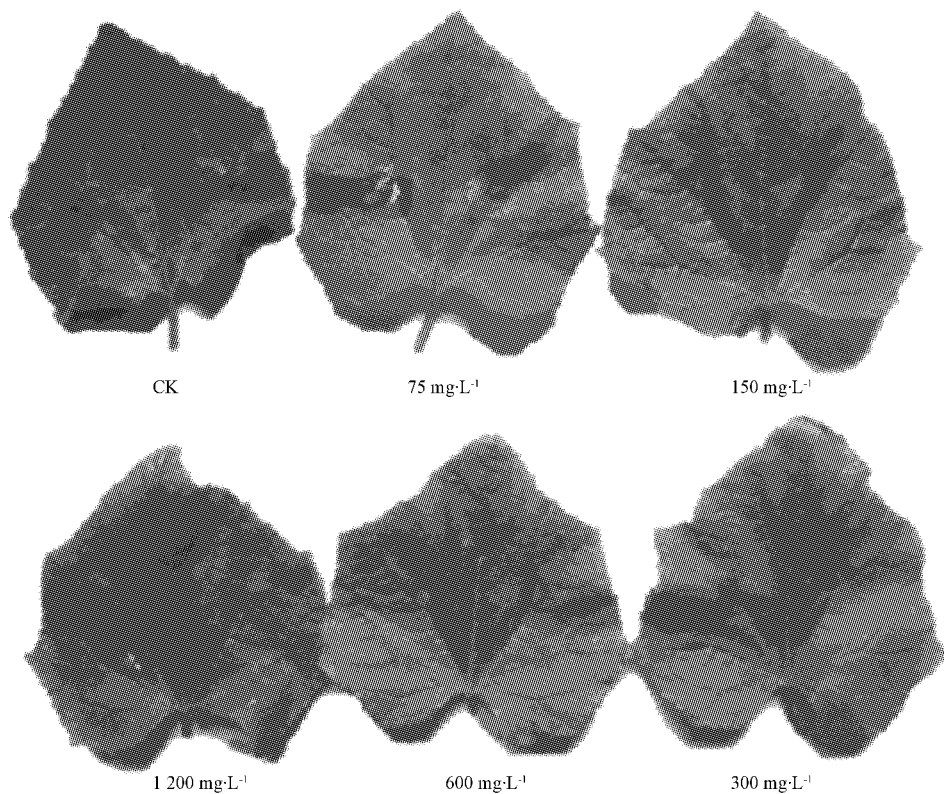


图 9 离体条件下辽细辛精油对黄瓜灰霉病的治疗作用

Fig. 9 The therapeutic action of asarum essential oils on cucumber gray mold *in vitro*

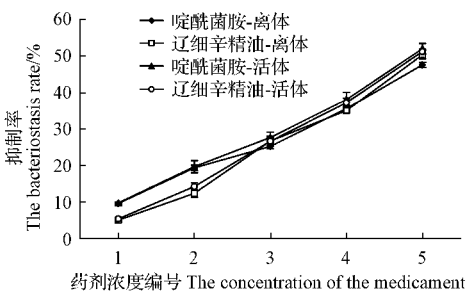


图 10 辽细辛精油对黄瓜灰霉病的治疗作用

Fig. 10 Therapeutic action of asarum essential oils on cucumber gray mold

表 2 辽细辛精油对黄瓜灰霉病的治疗效果

Table 2 Therapeutic effect of asarum essential oils on cucumber gray mold

作用方式	药剂	毒力回归方程	相关系数	EC <sub>50</sub>	95%置信区间
	Medicament	Regression equation	Correlation coefficient	/(mg · L <sup>-1</sup> )	95% confidence interval
活体 <i>in vivo</i>	吡啶菌胺	Y=2.251 3+	0.996 3	361.20	308.41~423.02
	Cantus	1.074 6x			
	辽细辛精油	Y=0.974 3+			
离体 <i>in vitro</i>	Asarum	1.334 6x	0.993 9	456.62	268.93~775.31
	吡啶菌胺	Y=2.364 7+			
	Cantus	0.990 9x			
离体 <i>in vitro</i>	辽细辛精油	Y=0.894 9+	0.992 1	1 094.50	758.79~1 578.75
	Asarum	1.350 7x			

### 3 结论与讨论

该研究结果表明,辽细辛精油对黄瓜灰霉病既有保护作用也有治疗作用,且随着药剂浓度的升高药效逐渐提高。辽细辛精油的保护作用优于治疗作用,充分体现了“预防为主”的植保理念。辽细辛精油的活体效果优于离体效果,但离体条件下的药效趋势与活体条件下的药效趋势一致,且 EC<sub>50</sub> 差别不是很大,说明可用离体试验代替活体试验。

随着人们对健康和环境问题的日益重视,由化学农药带来的残留、环境污染等问题受到人们普遍关注,在作物上使用更加安全的生物农药来替代化学农药已经成为当务之急<sup>[4]</sup>。开发对有害生物高效、对非靶标生物安全、易分解、且分解产物对环境无损害的生物农药是目前广泛研究和应用的领域<sup>[5]</sup>,我国植物种类繁多、资源丰富,植物源农药也有助于提高农产品品质和附加值,植物源农药成了较为理想的替代产品之一,加速其产业化是顺应人类生活质量提高和社会进步的必然选择,是保证农业可持续发展的重要手段,是今后农药工业发展的方向<sup>[6]</sup>。

2002 年国外报道了 67 种植物提取油对 6 种真菌的活性,对不同的真菌,其抑制效果也不相同,并且提出这些天然植物提取油将成为新的杀菌剂产品防治植物病

原真菌。SHIMONI 等<sup>[7]</sup>测试了 *Origanum syriacum* 等 4 种植物精油对棉枯萎病菌(*F. oxysporum*)、大茎点霉菌(*Macrophomina phaseolina*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)和玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)的抑菌活性,发现 *Origanum syriacum* 精油的抑菌活性最强,对棉枯萎病菌抑菌率为 44%,而对其它 3 种则完全抑制。WILSON 等<sup>[8]</sup>测试了 345 种植物提取液和 49 种精油对番茄灰霉病菌的抗菌活性,结果表明,13 种葱属和辣椒属的植物提取液和 *Palmarosa* 等 4 种精油具有高水平的抗菌活性。唐洪妹<sup>[9]</sup>通过 3 种植物精油对甜瓜灰霉病菌的毒力测定试验得出,薄荷油的毒力最高,其  $EC_{50}$  为  $223.564\ 2\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其次为天竺葵油和薰衣草油,其  $EC_{50}$  分别为  $262.631\ 9\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $269.415\ 0\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。张国珍等<sup>[10]</sup>研究了麻黄(*Ephedra sinica*)和北细辛挥发油的抗真菌作用,结果表明二者对 *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  $IC_{50}$  分别为  $53.7\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $87.8\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其熏蒸作用均随培养时间的延长表现出不同程度的增强。

在 PDA 培养基上,辽细辛精油对灰葡萄孢菌菌丝生长的抑制作用较好, $EC_{50}$  为  $159.98\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[3]</sup>。该试验在黄瓜幼苗活体叶片和离体叶片上测定了辽细辛精油对灰葡萄孢菌的药效, $EC_{50}$  超过  $1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (是培养基上的 6.5 倍)。在黄瓜幼苗上的药效远不如培养基上的,究其原因在于:辽细辛精油具有挥发性,在培养基上测对菌丝生长的抑制作用时,环境是密闭的,挥发物

集中于培养皿中;而室内在寄主上测药效时,环境是开放的,挥发物均散开了。表明辽细辛精油的挥发物对病菌具有一定的抑制作用。为了将辽细辛精油真正用于生产,必须减少或避免其挥发物质的自由挥发,方法是加入助剂,将其加工成便于生产和使用的剂型,这需要进一步的研究。世界上的一些公司正在从事具有广谱杀菌活性的植物精油的开发和实际应用,使之取代某些大量的合成农药。

### 参考文献

- [1] 唐明,晋知文,谢学文,等. 吡啶酰胺对黄瓜灰霉病防治效果的综合评价[J]. 中国蔬菜,2016(2):51-55.
- [2] 回瑞华,魏倩,盖泽广. 辽细辛挥发油学成分的研究[J]. 辽宁大学学报,1993,20(2):87-93.
- [3] 王桂清. 辽细辛提取物对灰葡萄孢菌的抑制效果[J]. 植物保护,2008,34(2):35-39.
- [4] 袁文金,马德英,郭冬雪,等. 我国植物源农药研究进展[J]. 新疆农业科学,2007,44(6):892-897.
- [5] 俞晓平,吕仲贤,陈建明,等. 植物源农药的研究进展[J]. 浙江农业学报,2005,17(1):42-48.
- [6] 王桂清,张敏,张军华. 细辛精油和 4 种化学药剂对黄瓜灰霉病菌的抑制作用[J]. 华中农业大学学报,2008,27(5):597-600.
- [7] SHIMONI M, PUTZEVSKY E, RAVID U, et al. Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in israel[J]. Journal of Chemical Ecology, 1993, 19(6):1129-1133.
- [8] WILSON L, SOLARJ M, GHAAUTHA E, et al. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against botrytis cinere[J]. Plant Disease, 1997, 81(2):204-210.
- [9] 唐洪妹. 三种植物精油对甜瓜灰霉病菌的毒力测定试验[J]. 上海蔬菜,2009(3):87.
- [10] 张国珍,樊英,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.

## Indoor Efficacy of Asarum Essential Oils Against Cucumber Gray Mold

MA Di, WANG Guqing

(College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059)

**Abstract:** The asarum essential oils was used as test materials, cucumber *Botrytis cinerea* as the target germ, adopted inoculative method with pathogen piece, the indoor efficacy of asarum essential oils against cucumber gray mold *in vivo* and *in vitro* were studied. In order to explore the practical applicability of the asarum essential oils and provide the theory basis for the development of plant source disinfectant. The results showed that the efficacy of asarum essential oils included protective action and therapeutic action against cucumber gray mold, and with the increase of asarum essential oil concentration, the efficacy was gradually increased. While protective action were superior to therapeutic action of asarum essential oil. Both of the  $EC_{50}$  were  $1\ 033.30\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $1\ 038.31\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  *in vivo*, which showed the concept of prevention first.

**Keywords:** asarum essential oils; cucumber gray mold; indoor efficacy; protective action; therapeutic action