

# 细辛精油对 5 种木本花卉病害的离体抑菌效果比较

王桂清<sup>1,2</sup>, 姬兰柱<sup>1</sup>

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

**摘要:** 采用生长速率法和孢子萌发法测定了细辛精油对引起木本花卉叶部病害的 5 种病原菌(牡丹炭疽病、牡丹拟盘多毛孢叶斑病、月季黑斑病、肉桂链格孢叶斑病和龙血树镰孢叶斑病)的菌丝生长和孢子萌发的抑制作用。结果表明: 细辛精油对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制效果均为最好,  $EC_{50}$  分别为 120.43 mg/L 和 110.66 mg/L; 对于同一种病原菌来说, 细辛精油对牡丹炭疽病菌和肉桂链格孢叶斑病菌菌丝生长的抑制作用强于对其孢子萌发的抑制作用, 对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌和龙血树镰孢叶斑病菌孢子萌发的抑制作用强于对其菌丝生长的抑制作用。

**关键词:** 细辛; 精油; 花卉病害; 抑菌活性

**中图分类号:** S 482.2<sup>+</sup>92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)09-0220-03

在有害生物的可持续控制中, 生物防治将成为控制农业生物灾害、保护农田生态健康的重要手段。而作为生物防治重要组成部分的植物源农药, 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。花卉是重要的园艺作物、城市观赏植物, 在人们的工作生活中发挥着不可代替的作用。花卉种类多, 发生的病虫害种类也多。在“环保、绿色”的理念下, 对花卉病虫害的防治应采取生物防治、生态防治。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, 是我国重要的中草药, 在医学上具有散寒祛风、解毒止疼、活血平喘、治疗关节炎症等作用<sup>[1]</sup>。其所含有的活性物质也具杀虫抑菌作用。细辛的活性成分主要是精油, 植物精油在环境中残留较低, 不污染环境, 病害不易产生抗药性。研究选择细辛精油为材料, 初步探讨其对木本花卉叶部病害的离体抑菌作用, 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

植物样品为辽细辛的根部, 购自沈阳市中草药市场。将其进一步晒干、粉碎, 40 目过筛。

**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, 主要从事植物保护的教学与科研工作。

**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。

**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:** 2007-07-17

细辛精油的提取: 所用仪器为 TC-SFE-42-5-120S 超临界萃取设备(沈阳天诚超临界萃取有限公司制造)。称取样品 1.85 kg, 装入 5 L 的萃取罐内, 超临界  $CO_2$  萃取: 萃取压力 20 MPa, 萃取温度 40℃, 流量 20 kg/h; 解析釜 I 压力 6~7 MPa, 温度 45℃; 解析釜 II 压力 5~6 MPa, 温度 35℃, 萃取时间为 90 min, 每 20 min 收集一次提取物, 称量, 密封, 置 4℃冰箱中保存备用。1.85 kg 的原料共萃取得到 42 g 精油, 提取率为 2.27%。

### 1.2 供试病菌

以牡丹炭疽病菌(*Gloeosporium* sp.)、牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌(*Pestalotiopsis* sp.)、月季黑斑病菌(*Actinonema rosae* (Lib.) Fr.)、肉桂链格孢叶斑病菌(*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.) 及龙血树镰孢叶斑病菌(*Fusarium moniliforme* Sheld.) 等作为供试病菌, 由聊城大学农学院植物病理研究室提供。

### 1.3 药液的配制

菌丝生长抑制试验药液的配制: 将细辛精油用少许无水乙醇充分溶解, 用无菌水配制成 12 000 mg/L 的母液, 然后用无菌水稀释成 12 000、6 000、3 000、1 500、750 mg/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 48 000、24 000、12 000、6 000、3 000 mg/L 等 5 个浓度梯度, 备用。

### 1.4 生物测定方法

以生长速率法(琼胶平板法)<sup>[2]</sup>测定细辛精油对 5 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 1 200、600、300、150、75 mg/L。菌饼直径 0.5 cm, 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 3 cm 以上时, 用十字交叉法测量菌落直径。根据菌落直径求抑制生长的百分率, 公式如下:

菌落生长直径=两次直径平均值-0.5 cm,  
菌丝生长抑制率=(对照菌落生长直径-处理菌落生长直径)/对照菌落生长直径×100%。

以孢子萌发法(悬滴法)<sup>[3]</sup>测定细辛精油对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78 μL与2 μL试验药液混合使之达到规定浓度(药液终浓度分别为1 200、600、300、150、75 mg/L),以二甲基亚砜(2 μL+78 μL无菌水)为空白对照,3次重复,12 h观察结果 根据下列公式计算抑制率:萌发率=孢子萌发数/检查孢子总数×100%,孢子萌发抑制率=(对照萌发率-处理萌发率)/对照萌发率×100%。

1.5 细辛精油对病原菌毒力回归线的建立

表 1		细辛精油对 5 种病原菌菌丝生长的抑制率				
病原菌		菌丝生长抑制率/%				
		75 mg · L <sup>-1</sup>	150 mg · L <sup>-1</sup>	300 mg · L <sup>-1</sup>	600 mg · L <sup>-1</sup>	1 200 mg · L <sup>-1</sup>
牡丹炭疽病菌		8.54 ±0.73E	23.57 ±1.17E	32.70 ±1.12D	63.67 ±2.98C	94.84 ±1.70B
牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌		46.02 ±0.28A	53.53 ±0.61A	68.54 ±1.21A	83.60 ±0.05A	98.96 ±0.56A
月季黑斑病菌		28.55 ±1.70B	38.25 ±1.85B	49.60 ±1.67B	69.09 ±3.28B	93.22 ±1.90BC
肉桂链格孢叶斑病菌		13.80 ±0.16D	34.57 ±1.10C	47.21 ±1.54B	72.884 ±0.94B	84.59 ±0.68D
龙血树镰孢叶斑病菌		18.45 ±1.59C	29.18 ±0.42D	41.58 ±1.18C	82.55 ±0.55A	90.83 ±0.77C

从表1看出,细辛精油对5种木本花卉病菌均有较好的抑制作用,抑制率均随精油浓度的升高而增加;在同一浓度下,细辛精油对不同病菌的抑制率不同,并均达到显著差异;当精油浓度大于300 mg/L时,对菌丝生长的抑制率均超过60%;当浓度小于300 mg/L时,对菌丝生长的抑制率均低于60%;而当浓度等于300 mg/L时,对菌丝生长的抑制率差异较大,如对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌的抑制率为68.54%,而对牡丹炭疽病菌的抑制率仅为32.70%。

表 2 细辛精油对 5 种病原菌菌丝生长的毒力回归线					
病原菌	毒力回归 方程	相关系 数/ <i>r</i>	<i>SE</i>	<i>EC</i> <sub>50</sub> / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	<i>EC</i> <sub>90</sub> / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
牡丹炭疽病菌	$Y = -0.9270 + 2.3475X$	0.9699	21.991	334.74	1176.6
牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌	$Y = 1.0522 + 1.8973X$	0.9864	13.587	120.43	570.4
月季黑斑病菌	$Y = 1.1781 + 1.6329X$	0.9871	20.007	219.03	1334.6
肉桂链格孢叶斑病菌	$Y = 0.7166 + 1.7350X$	0.9946	24.077	294.31	1612.4
龙血树镰孢叶斑病菌	$Y = 0.2315 + 1.9741X$	0.9735	19.621	260.34	1160.8

根据细辛精油对5种病原菌菌丝生长的抑制作用,将抑制率转化成几率值,浓度转化成对数,进行几率值

表 3		细辛精油对 4 种病原菌孢子萌发的抑制率				
病原菌		菌丝生长抑制率/%				
		75 mg · L <sup>-1</sup>	150 mg · L <sup>-1</sup>	300 mg · L <sup>-1</sup>	600 mg · L <sup>-1</sup>	1 200 mg · L <sup>-1</sup>
牡丹炭疽病菌		11.54 ±1.25C	23.41 ±1.59C	36.31 ±1.60C	51.21 ±2.81C	93.02 ±0.53C
牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌		32.95 ±2.32A	65.75 ±9.38A	79.48 ±3.55A	90.30 ±1.04A	96.74 ±0.65B
肉桂链格孢叶斑病菌		8.56 ±1.81C	19.76 ±0.63C	21.64 ±1.74D	30.26 ±1.98D	89.91 ±1.89D
龙血树镰孢叶斑病菌		17.21 ±1.14B	45.09 ±2.79B	58.93 ±1.95B	76.70 ±2.87B	100.00 ±0.00A

从表3中可以看出:在供试浓度下,细辛精油对4种木本花卉病害病原菌孢子萌发均有一定的抑制作用,且抑制率随精油浓度的升高而增加;在同一浓度下,细辛精油对不同病菌的抑制率不同,并均达到显著差异。如在600 mg/L浓度下的孢子萌发抑制率,最低的为肉桂链

取细辛精油适当量,加入一定量的无水乙醇使之完全溶解,用无菌水或二甲基亚砜等比稀释成1 200、600、300、150、75 mg/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5种病原菌的抑制中浓度(*EC*<sub>50</sub>)。

1.6 数据分析

试验数据线性回归由SPSS 13.0完成;差异显著性分析依据Duncar新复极差法,由DPS v3.01专业版完成。

2 结果与分析

2.1 对病原菌菌丝生长的抑制作用

供试条件下,测定了细辛精油对5种木本花卉叶部病害病原菌菌丝生长的抑菌效果,抑制率如表1所示。

分析,求出了细辛精油对5种病菌菌丝生长的抑制中浓度(*EC*<sub>50</sub>),结果如表2所示。

从表2中可以看出,相关系数(*r*)均为正值,说明细辛精油对病原菌菌丝生长的抑制效果,在供试浓度下均随浓度的增加而增加;查相关系数检验表可知,当 $\alpha=0.05$ 时,*r*<sub>表</sub>=0.878,由于*r*>*r*<sub>表</sub>,说明细辛精油对病原菌菌丝生长的抑制效果和精油浓度的线性相关关系显著。比较*EC*<sub>50</sub>,细辛精油对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌的抑制效果最好,*EC*<sub>50</sub>仅为120.43 mg/L,其次是月季黑斑病菌、龙血树镰孢叶斑病菌和肉桂链格孢叶斑病菌,而对牡丹炭疽病菌的抑制效果较差,*EC*<sub>50</sub>为334.74 mg/L。比较*EC*<sub>90</sub>,抑菌效果最好的仍是对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌,*EC*<sub>90</sub>为570.4 mg/L,而对肉桂链格孢叶斑病菌抑制效果较差,*EC*<sub>90</sub>为1 612.4 mg/L。

2.2 对病原菌孢子萌发的抑制作用

供试条件下,测定了细辛精油对4种木本花卉病原菌孢子萌发的抑制作用,12 h孢子萌发抑制率如表3所示。

格孢,仅为30.26%,最高的为牡丹拟盘多毛孢,高达90.30%,是前者的2.98倍;对于病原菌,总体上看,细辛精油对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌孢子萌发的抑制效果较好,而对肉桂链格孢叶斑病菌孢子萌发的抑制效果较差。

根据细辛精油对4种病菌孢子萌发的抑制效果,可

以求出细辛精油对 4 种病菌孢子萌发的抑制中浓度 ( $EC_{50}$ ), 结果如表 4 所示。

表 4 细辛精油对 4 种病原菌孢子萌发的抑制中浓度

病原菌	毒力回归方程	相关系数 $r$	$SE$	$EC_{50}$ / $mg \cdot L^{-1}$	$EC_{90}$ / $mg \cdot L^{-1}$
牡丹炭疽病菌	$Y = -0.1790 + 2.0288X$	0.9479	26.59	356.98	1528.8
牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌	$Y = 1.2902 + 1.8149X$	0.9918	13.87	110.66	562.5
肉桂链格孢叶斑病菌	$Y = -0.0750 + 1.8677X$	0.8781	50.68	521.57	2532.2
龙血树镰孢叶斑病菌	$Y = -4.1750 + 4.0796X$	0.8706	8.01	177.41	365.7

从表 4 中看出, 比较  $EC_{50}$ , 细辛精油对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌孢子萌发的抑制效果最好,  $EC_{50}$  为 110.66 mg/L, 其次为龙血树镰孢叶斑病菌,  $EC_{50}$  为 177.41 mg/L, 而对肉桂链格孢叶斑病菌的抑制效果最差  $EC_{50}$  为 521.57 mg/L; 比较  $EC_{90}$ , 细辛精油对龙血树镰孢叶斑病菌孢子萌发的抑制效果最好,  $EC_{90}$  为 365.7 mg/L, 其次为牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌,  $EC_{90}$  为 562.5 mg/L, 而对肉桂链格孢叶斑病菌的抑制效果最差  $EC_{90}$  为 2532.2 mg/L。即细辛精油对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌和龙血树镰孢叶斑病菌孢子萌发的抑制效果较好, 对牡丹炭疽病菌和肉桂链格孢叶斑病菌的抑制效果较差。

3 结论与讨论

室内采用生长速率法测定了细辛精油对 5 种木本花卉叶部病害(牡丹炭疽病、牡丹拟盘多毛孢叶斑病、月季黑斑病、肉桂链格孢叶斑病和龙血树镰孢叶斑病)病原菌菌丝生长的抑制作用。采用孢子萌发法测定了细辛精油对 4 种病害(牡丹炭疽病、牡丹拟盘多毛孢叶斑病、肉桂链格孢叶斑病和龙血树镰孢叶斑病)病原菌孢子萌发的抑制作用。结果表明 细辛精油对供试病菌的菌丝生长和孢子萌发均具有抑制作用, 在同一供试浓度下, 细辛精油对不同病菌的抑制效果不同, 并均达到显著差异; 从  $EC_{50}$  看, 细辛精油对牡丹拟盘多毛孢叶斑病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制效果均为最好,  $EC_{50}$  分别为 120.43 mg/L 和 110.66 mg/L; 细辛精油对同种病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制效果不同, 比较  $EC_{50}$  和  $EC_{90}$ , 细辛精油对牡丹炭疽病菌和肉桂链格孢叶斑病菌菌丝生长的抑制作用强于对其孢子萌发的抑制作用, 对牡丹拟

盘多毛孢叶斑病菌和龙血树镰孢叶斑病菌孢子萌发的抑制作用强于对其菌丝生长的抑制作用。

吴新安等<sup>[4]</sup>研究表明, 大部分抑菌种子植物种类集中在菊科、豆科、伞形科、禾本科、唇形科、木兰科、马兜铃科、蓼科、木犀科、百合科、葫芦科、莎草科、十字花科和樟科等。周勇等<sup>[5]</sup>研究了细辛挥发油对真菌的作用, 细辛挥发油无论气体熏蒸或直接作用, 都有抗真菌作用; 细辛挥发油对部分试验真菌只表现抑菌作用, 而黄樟醚表现出杀菌作用, 其为细辛油抗真菌的主要有效成分, 抗菌有效浓度为  $6 \times 10^{-5} \text{ mL/cm}^3$ , 其杀菌作用比 40% 甲醛强 4 倍, 比石炭酸强 1 倍。张国珍等<sup>[6]</sup>报道了细辛油对 *Alternaria panax*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia solani* 等病原真菌有较强的抑制作用。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>。王桂清等<sup>[9]</sup>在室内测定了细辛精油对 6 种苹果病害病原菌的离体抑制效果, 表明细辛精油对褐斑病菌菌丝生长的抑制效果最好,  $EC_{90}$  仅为 397.37 mg/L; 对炭疽病菌孢子萌发的抑制效果最好,  $EC_{50}$  仅为 276.77 mg/L。

以上结果表明细辛精油对病原菌有较好的抑制作用, 作为植物源杀菌剂有一定的研究前景。

参考文献

[ 1 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一)[ M ]. 北京: 化学工业出版社, 2005.  
[ 2 ] 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.  
[ 3 ] 方中达. 植物病理研究方法[ M ]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998, 152.  
[ 4 ] 吴新安, 花日茂, 朱有才, 等. 植物源抗菌、杀菌活性物质研究进展[ J ]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(3): 245-249.  
[ 5 ] 周勇, 姚三桃, 吴琦, 等. 细辛挥发油抗真菌作用及其有效成分黄樟醚的研究[ J ]. 中医杂志, 1981, 22(12): 62.  
[ 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.  
[ 9 ] 王桂清, 张秀省, 姬兰柱. 细辛精油对 6 种苹果病害的离体抑菌活性[ J ]. 北方园艺, 2007(6): 29-32.

The Antibacterial Effects of Asarum Essential Oils on Diseases in Ligneous Flower in Vitro

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

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

**Abstract:** The effects of asarum essential oils on hyphae growth and spore germination of five pathogens (*Gloeosporium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Actinonematosae*, *Alternaria alternata*, *Fusarium moniliforme*) in leaves of ligneous flower 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 hyphae growth of *Gloeosporium* sp. and *Alternaria alternata* were higher than that on spores germination, on spores germination of *Pestalotiopsis* sp. and *Fusarium moniliforme* were higher than that on hyphae growth. The effect on hyphae growth and spores germination of *Pestalotiopsis* sp. was best,  $EC_{50} = 120.43 \text{ mg/L}$  and  $EC_{50} = 110.66 \text{ mg/L}$ .

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