

天然植物提取物对茄子黄萎病菌的抑制活性*

张淑红 周宝利** 张磊 付亚文

(沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

【摘要】 以茄子黄萎菌为供试菌种, 研究了 54 种天然植物乙醇提取液对茄黄萎菌的抑菌活性. 结果表明, 有 15 种植物提取物对茄子黄萎菌菌丝生长抑制率大于 50%, 其中细辛、黄连、厚朴、儿茶、苦参、甘草、蛇床子、桔梗、洋葱提取物对供试菌菌丝生长抑制作用较强, 抑制效果均在 65% 以上, 蛇床子抑制率高达 86.84%. 有 16 种植物提取物对病菌孢子萌发抑制作用大于 70%, 其中 7 种植物提取物对孢子萌发抑制率大于 95% 以上, 细辛、黄连、厚朴基本上抑制了孢子萌发, 儿茶提取物对菌丝生长抑制效果较差, 但却显著抑制了孢子萌发, 抑制率达 100%. 蛇床子提取物虽然抑菌效果较高, 但其处理孢子萌发率为 11.3%. 研究发现天然植物提取物中存在着抑制黄萎菌活性物质, 这为生物防治黄萎病和进一步研究蔬菜抗病增产理论提供了新思路与途径.

关键词 植物提取物 茄子 黄萎菌 抑制作用

文章编号 1001-9332(2006)06-1137-04 中图分类号 S641.1 文献标识码 A

Inhibitory effects of natural plant extracts on *Verticillium albo-atrum*. ZHANG Shuhong, ZHOU Baoli, ZHANG Lei, FU Yawen (College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2006, 17(6): 1137 ~ 1140.

This paper studied the inhibitory effects of 54 kinds of ethanol-extracted plant solutions on *Verticillium albo-atrum*. The results showed that 15 kinds of these extracts could inhibit the growth of *verticillium albo-atrum* mycelium, with an inhibitory rate more than 50%, among which, the inhibitory rate of *Asarum sieboldii*, *Coptis chinensis*, *Magnolia officinalis*, *Acacia catechu*, *Sophora flavescens*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Cnidium monnieri*, *Platycodon grandiflorum* and *Allium cepa*. extracts was higher than 65%, and that of *Cnidium monnieri* extract reached 86.84%. A total of 16 kinds of plant extracts decreased the spore germination of *V. albo-atrum*, with the inhibitory rate higher than 70%, and there were 7 kinds of plant extracts whose inhibitory rate reached 95%. Almost no spore bourgeon was found after treated with *Asarum sieboldii*, *Coptis chinensis*, and *Magnolia officinalis* extracts. The extract of *Acacia catechu* did not inhibit the growth of mycelium, but restrained the spore germination by 100%. *Cnidium monnieri* extract could strongly inhibit the growth of mycelium, but had a less effect on spore germination rate (only by 11.3%). The active substances found in natural plant extracts which had the inhibitory effects on pathogen brought us a new and promising method to deal with *V. albo-atrum* and other vegetable diseases.

Key words Plant extracts, Eggplant, *Verticillium albo-atrum*, Inhibitory effect.

1 引言

茄子黄萎病(*Verticillium albo-atrum*)是一种典型土传病害, 病菌寄主范围广, 越冬场所多, 在土中存活时间长(6~7年), 由于常年连续栽培(连作), 发生极为普遍. 生产中常选择高抗或免疫砧木进行换根嫁接, 减轻了茄子的连作障碍, 较好地防治了黄萎病的发生, 但嫁接换根后植株发病仍有发生^[11, 15, 19]. 目前并没有较好的抗病品种, 而传统的综合防治措施既耗费人力、财力, 污染环境, 又达不到令人满意的效果. 如何对黄萎病进行有效地生物防治已成为茄子生产上迫切需要解决的关键性技术问题. 植物是生物活性物质天然宝库, 其产生次生代谢产物超过 40 多万, 其中一些化学物质具有杀虫、杀菌效果^[4-7, 16, 17]. 开发新型植物源杀菌剂是目前研究的热点之一, 已知具有抗菌活性的植物有效成分包括生物碱、黄酮、酚、醇和酯等, 几乎涉及各类植物成分^[1-3, 12]. 自 20 世纪 70 年代以来, 国外很多学者在该领域,

尤其是对病菌有抑制活性的植物提取物方面进行了很多有益的探索^[8-20]. 但利用化感作用防治茄子黄萎病的相关报道还不多见, 特别是利用天然植物活性成分防治茄子黄萎病的研究更少见报道. 因此, 本试验从天然植物对微生物化感作用角度, 选用 54 种天然植物来研究其提取物对茄子黄萎病的抑制作用, 筛选具有较高抑菌活性的天然植物提取物, 为研制开发天然植物抑菌剂提供理论依据.

2 材料与方法

2.1 供试材料

选择 32 属 54 种植物材料作为初筛材料(表 1). 供试菌种为茄子黄萎病菌(*Verticillium albo-atrum*), 按照柯氏法则(Koch's Postulate)对其进行分离鉴定.

* 国家“863”计划资助项目(2004AA247010).

** 通讯联系人. E-mail: zblaaa@163.com

2005-06-20 收稿, 2006-04-17 接受.

2.2 研究方法

植物提取物的制备, 将植物材料烘干粉碎后与 80% 乙醇按质量体积比为 1:5 的比例混合, 在 KQ-500DB 型超声波清洗机中超声振荡提取 30 min, 离心 20 min 取上清液, 在 45 °C 恒温下采用 EYELA N-1000 型旋转蒸发真空仪旋转蒸发浓缩, 最后用 50% 乙醇定容(药液体积毫升数与药克数相等) [18], 编号后于冰箱 4 °C 保存备用. 54 种样品分别编号为 PE-1 ~ PE-54.

植物提取液对茄子黄萎菌菌丝生长影响采用生长速率法测定, 将植物提取液 1 ml 加入到 49 ml 已融化并冷却至 40 °C 灭菌 PDA 培养基中(即浓度为 20 mg ml⁻¹), 混合均匀后制成平板, 每处理重复 4 次, 以纯 PDA 培养基作为对照(CK₁). 每次试验同时设有 50% 乙醇 PDA 平板(CK₂) 和 50% 多菌灵 500 倍液(CK₃) 两个处理做对照. 然后在无菌条件下, 分别接直径为 6 mm 经纯培养的茄子黄萎菌菌丝圆片, 24 °C 下暗培养, 10 d 后用十字交叉法测定菌落直径, 并计算抑菌率 [19, 21].

植物提取物对病原真菌分生孢子萌发影响采用悬滴法测定, 将提取液稀释 50 倍, 取 10 μl 稀释液与 10 μl 茄子黄萎菌分生孢子悬浮液于载玻片上混合(即浓度为 40 mg ml⁻¹), 24 °C 保湿悬滴培养, 16 h 后镜检培养结果, 记录孢子萌发个数和未萌发孢子个数, 计算萌发率和抑制率. 以 50% 乙醇

处理作为空白对照(CK₂). 每处理重复 6 次.

3 结果与分析

3.1 植物提取物对茄子黄萎菌菌丝生长影响

在供试的 54 种植物材料中, 不同植物材料对茄子黄萎菌菌丝生长表现出了不同程度的抑制作用(表 2). 其中有 15 种植物提取物对茄子黄萎菌菌丝生长抑制率大于 50%, 其中 PE-5、PE-11、PE-16、PE-17、PE-18、PE-27、PE-45、PE-53 等提取物在 20 mg ml⁻¹ 浓度时对菌丝生长抑制作用较强, 抑制效果均在 65% 以上. 含有乙醇对照处理(CK₂) 对菌丝生长抑制作用较小, 因此可以忽略乙醇对菌丝生长的作用. 通过本次试验, 初步筛选出 10 种抑菌效果较好的植物提取物进行进一步试验, 它们分别为 PE-27、PE-13、PE-17、PE-5、PE-11、PE-16、PE-45、PE-53、PE-18、PE-52.

表 3 为筛选出的 10 种植物提取物对黄萎菌菌丝生长影响统计分析结果, 由表 3 可以看出, 10 种植物提取物抑菌效果与对照乙醇 CK₂ 差异均达到极显著水平, 提取物 PE-16、PE-45、PE-53、PE-18 与对照药剂(CK₃) 多菌灵 500 倍液(CK₃) 室内抑菌效果差异不显著, 而 PE-27、PE-13、PE-17、PE-5、PE-11 均与对照药剂(CK₃) 抑菌效果达极显著差异, 且 PE-27、PE-13、PE-17、PE-5 抑菌率大于 70%, 表现出较强的抑菌作用.

表 1 供试植物名录

Table 1 Catalogue of tested plants

植物种类 Plant species	来源 Resource	植物种类 Plant species	来源 Resource
PE-1 木贼 <i>Equisetum hiemale</i>	辽宁 Liaoning	PE-28 连翘 <i>Forsythia suspense</i>	河南 Henan
PE-2 贯众 <i>Osmunda japonica</i>	辽宁 Liaoning	PE-29 菟丝子 <i>Cuscuta chinensis</i>	内蒙古 Neimenggu
PE-3 白果 <i>Ginkgo biloba</i>	山东 Shandong	PE-30 藿香 <i>Agastache rugosa</i>	广东 Guangdong
PE-4 鱼腥草 <i>Houttuynia cordata</i>	四川 Sichuan	PE-31 荆芥 <i>Schizonepeta tenuifolia</i>	河北 Hebei
PE-5 细辛 <i>Asarum sieboldii</i>	辽宁 Liaoning	PE-32 黄芩 <i>Scutellaria baicalenis</i>	内蒙古 Neimenggu
PE-6 何首乌 <i>Polygonum cuspidatum</i>	四川 Sichuan	PE-33 车前 <i>Plantago asiatica</i>	辽宁 Liaoning
PE-7 大黄 <i>Rheum palmatum</i>	甘肃 Gansu	PE-34 牛蒡子 <i>Arctium lappa</i>	辽宁 Liaoning
PE-8 地肤子 <i>Kochia scoparia</i>	辽宁 Liaoning	PE-35 艾叶 <i>Artemisia argyi</i>	辽宁 Liaoning
PE-9 马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i>	河北 Hebei	PE-36 小薊 <i>Cirsium segetum</i>	内蒙古 Neimenggu
PE-10 附子 <i>Aconitum carmichaeli</i>	四川 Sichuan	PE-37 菊花 <i>Dendranthema lavandulifolium</i>	河北 Hebei
PE-11 黄连 <i>Coptis chinensis</i>	四川 Sichuan	PE-38 蒲公英 <i>Taraxacum mongolicum</i>	河南 Henan
PE-12 白头翁 <i>Pulsatilla chinensis</i>	辽宁 Liaoning	PE-39 苍耳子 <i>Xanthium sibiricum</i>	辽宁 Liaoning
PE-13 厚朴 <i>Magnolia officinalis</i>	湖北 Hubei	PE-40 旋覆花 <i>Inula japonica</i>	河北 Hebei
PE-14 莱菔子 <i>Raphanus sativus</i>	广西 Guangxi	PE-41 茵陈 <i>Artemisia capillaries</i>	河北 Hebei
PE-15 仙鹤草 <i>Agrimonia pilosa</i>	河北 Hebei	PE-42 木香 <i>Aucklandia lappa</i>	云南 Yunnan
PE-16 儿茶 <i>Acacia catechu</i>	湖南 Hunan	PE-43 百部 <i>Stemona japonica</i>	湖北 Hubei
PE-17 甘草 <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	内蒙古 Neimenggu	PE-44 姜黄 <i>Curcuma longa</i>	四川 Sichuan
PE-18 苦参 <i>Sophora flavescens</i>	辽宁 Liaoning	PE-45 山柰 <i>Kaempferia galanga</i>	广东 Guangdong
PE-19 槐米 <i>Sophora japonica</i>	湖北 Hubei	PE-46 桔梗 <i>Platycodon grandiflorum</i>	辽宁 Liaoning
PE-20 白鲜皮 <i>Dictamnus dasycarpus</i>	辽宁 Liaoning	PE-47 肉桂 <i>Cinnamomum cassia</i>	广西 Guangxi
PE-21 黄柏 <i>Phellodendron amurense</i>	辽宁 Liaoning	PE-48 紫草 <i>Lithospermum erythrorhizon</i>	新疆 Xinjiang
PE-22 川楝子 <i>Melia toosendan</i>	四川 Sichuan	PE-49 肉豆蔻 <i>Myristica fragrans</i>	海口 Haikou
PE-23 远志 <i>Polygala tenuifolia</i>	内蒙古 Neimenggu	PE-50 公丁香 <i>Eugenia caryophyllata</i>	广东 Guangdong
PE-24 白蔹 <i>Ampelopsis japonica</i>	辽宁 Liaoning	PE-51 板蓝根 <i>Isatis indigotica</i>	河北 Hebei
PE-25 白芷 <i>Angelica sinensis</i>	云南 Yunnan	PE-52 大蒜 <i>Allium sativum</i>	辽宁 Liaoning
PE-26 白芷 <i>Angelica dahurica</i>	四川 Sichuan	PE-53 洋葱 <i>Allium cepa</i>	辽宁 Liaoning
PE-27 蛇床子 <i>Cnidium monnieri</i>	辽宁 Liaoning	PE-54 韭菜 <i>Allium tuberosum</i>	辽宁 Liaoning

表2 植物提取物对茄子黄萎菌菌丝生长的抑制

Table 2 Inhibition of plant extraction on mycelium growth of *Verticillium albo-atrum*

处理 Treatments	抑菌率 Inhibition rate(%)	处理 Treatments	抑菌率 Inhibition rate(%)
PE-1	27.78	PE-29	54.07
PE-2	31.67	PE-30	18.89
PE-3	24.81	PE-31	37.11
PE-4	3.96	PE-32	18.52
PE-5	71.39	PE-33	35.93
PE-6	27.41	PE-34	39.26
PE-7	44.44	PE-35	15.00
PE-8	14.44	PE-36	33.33
PE-9	20.28	PE-37	29.44
PE-10	50.74	PE-38	24.07
PE-11	76.67	PE-39	32.59
PE-12	11.85	PE-40	9.63
PE-13	56.67	PE-41	36.67
PE-14	24.44	PE-42	37.78
PE-15	36.30	PE-43	32.22
PE-16	68.89	PE-44	32.59
PE-17	69.93	PE-45	65.93
PE-18	71.48	PE-46	37.41
PE-19	59.72	PE-47	61.11
PE-20	54.67	PE-48	38.89
PE-21	33.33	PE-49	38.15
PE-22	36.30	PE-50	34.16
PE-23	25.19	PE-51	31.11
PE-24	22.22	PE-52	62.78
PE-25	25.93	PE-53	67.14
PE-26	37.41	50%乙醇 50% Ethanol	9.26
PE-27	78.15	多菌灵 Carbendazine	49.44
PE-28	30.28		

表3 10种植物提取物对茄子黄萎菌菌丝生长抑制的统计

Table 3 Analyses of inhibition of ten kinds of plant extraction on mycelium growth of *Verticillium albo-atrum*

处理 Treatments	平均菌落直径 Average diameter of mycelium (cm)	抑菌率 Inhibition rate (%)
PE-27	1.10	86.84 aA
PE-13	1.62	78.25 bB
PE-17	1.83	73.54 cC
PE-5	2.07	71.40 dD
PE-11	2.12	60.96 dD
PE-16	2.32	55.26 eE
多菌灵 Carbendazine	2.41	51.93 eE
PE-45	2.43	51.85fEF
PE-53	2.43	51.85fEF
PE-18	2.49	51.37fEF
PE-52	2.58	48.15gF
50%乙醇 50% Ethanol	4.19	0.46hG

不同大小写字母分别表示差异达1%, 5%显著水平 Values followed by small and capital different letters in column mean significant differences at 1% and 5% level, respectively. 下同 the same below.

3.2 植物提取物对茄子黄萎菌分生孢子萌发的影响

根据表1的结果, 选取31种植物材料进行分生孢子萌发试验。由表4的结果可以看出, 有16种植物提取物在40 mg ml⁻¹浓度时对茄子黄萎菌孢子萌发的抑制作用大于70%, 其中PE-5、PE-11、PE-13、PE-17、PE-16、PE-27、PE-53共7种植物提取物对孢子萌发的抑制率大于95%以上。

经过进一步的筛选, 从表5可以看出PE-11、PE-13、PE-16、PE-17的提取物均抑制了黄萎菌孢子的萌发, 且孢子无

活力或活力较弱, PE-18、PE-5、PE-53、PE-27的孢子萌发率与多菌灵(CK₃)的孢子萌发率均达到极显著水平, 所有提取物孢子的萌发率与对照(CK₂)也均达极显著水平, 有效地抑制了病菌孢子的萌发。

表4 植物提取物对茄子黄萎菌孢子萌发的抑制作用

Table 4 Inhibition of plant extraction on spore germination of *Verticillium albo-atrum*

处理 Treatments	孢子萌发抑制率 Inhibition rate(%)	处理 Treatments	孢子萌发抑制率 Inhibition rate(%)
PE-5	96.39	PE-27	98.24
PE-7	64.57	PE-28	80.18
PE-10	68.17	PE-29	65.38
PE-11	100	PE-33	65.49
PE-13	100	PE-34	78.38
PE-15	66.64	PE-36	62.54
PE-16	98.19	PE-49	67.25
PE-17	100	PE-45	88.96
PE-18	86.74	PE-46	78.14
PE-52	81.38	PE-41	65.69
PE-31	67.27	PE-42	68.47
PE-19	69.71	PE-47	62.24
PE-20	64.65	PE-48	85.18
PE-21	63.18	PE-53	97.28
PE-22	76.26	PE-54	92.49
PE-26	67.57	多菌灵 Carbendazine	69.28

表5 9种植物提取物对茄子黄萎菌分生孢子萌发的影响

Table 5 Effect of nine kinds of plant extraction on spore germination of *Verticillium albo-atrum*

处理 Treatments	孢子萌发率 Germination rate(%)
对照 CK ₂	73.6aA
PE-45	21.3bB
多菌灵 Carbendazine	18.7cC
PE-53	14.6dD
PE-27	11.3eE
PE-5	9.5fF
PE-18	9.2fF
PE-17	0gG
PE-16	0gG
PE-11	0gG
PE-13	0gG

4 结 语

本试验依据离体生物测定结果, 筛选出PE-5、PE-11、PE-13、PE-17、PE-27、PE-16共6种植物提取物对茄子黄萎菌具有较强抑制活性, 并且抑制了病原孢子的萌发; 实验证明, 利用天然植物成分控制植物病害具有一定潜力, 可通过植物中抗菌活性物质来抑制病原真菌的生长, 进而达到抗病增产作用。但是本次试验仅局限于室内, 有待于进一步田间验证, 另外具有抑菌活性物质尚需进一步鉴定, 在这方面深入研究可望为病害生物防治提供新思路。

参考文献

- Alberto B, Alessandra Z, Aldo ZA, et al. 1997. Ultrastructural studies of the effects of *Alliums ativum* on phytopathogenic fungi in vitro. *Plant Dis*, **81**: 1241 ~ 1246
- Appletonja T. 1975. Inhibition of growth of 200 pathogenic fungi by garlic extract. *Mycologia*, **67**: 882 ~ 885

- 3 Aryaa CA. 1995. Effect of allacin and extracts of garlic and bignonia on two fungi. *Indian J Mycol Plant Pathol*, **25**: 316 ~ 318
- 4 Einhellig FA. 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *J Agron*, **88**: 886 ~ 893
- 5 Hu J-C (胡江春), Wang S-J (王书锦). 1996. Study on soil sickness by soybean continuous cropping 1. Effect of mycotoxin produced by *Penicillium purpurogenum*. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **7**(4): 396 ~ 400 (in Chinese)
- 6 Kong C-H (孔垂华). 1998. Problems needed attention on plant allelopathy research. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **9**(3): 332 ~ 336 (in Chinese)
- 7 Kong C-H (孔垂华), Hu F (胡飞). 2001. Allelopathic Effect and Application of Plant. Beijing: China Agricultural Press. 238 ~ 251 (in Chinese)
- 8 Lehle FR, Putnam AR. 1983. Allelopathic potential of sorghum (*Sorghum bicolor*): Isolation of seed germination inhibitors. *J Chem Ecol*, **9**: 1223 ~ 1234
- 9 Liu S-P (刘素平), Wang R-X (王汝贤), Zhang R (张荣), et al. 1998. Effects of sugar and amino acid in root exudation of different resistant cotton cultivars on cotton *Fusarium* wilt pathogen. *J Northwestern Agric Univ (西北农业大学学报)*, **26**(6): 30 ~ 35 (in Chinese)
- 10 Martin VL, McCoy EL, Dick WA. 1990. Allelopathy of crop residues influences corn seed germination and early growth. *Agron J*, **82**: 555 ~ 560
- 11 Meng Z-L (孟昭礼), Luo L (罗兰), Yuan Z-L (袁忠林), et al. 2002. Control effect of fungicide yintai artificial synthesized on 3 kinds of tomato diseases. *Sci Agric Sin (中国农业科学)*, **35**(7): 863 ~ 866 (in Chinese)
- 12 Murray AH. 1996. Effects of simple phenolic compounds of heather (*Calluna vulgaris*) on rumen microbial activity in vitro. *J Chem Ecol*, **22**: 1493 ~ 1505
- 13 Ortega RC, Anaya AL, Ramos L. 1988. Effects of allelopathic compounds of corn pollen on respiration and cell division of watermelon. *J Chem Ecol*, **14**: 71 ~ 86
- 14 Schutt C, Netzly D. 1991. Effect of apiforol and apigen-inidin on growth of selected fungi. *J Chem Ecol*, **17**: 2261 ~ 2266
- 15 Wang D-L (王大力), Zhu X-R (祝心如). 1996. Study on allelopathy of *Ambrasia* sp. *Acta Ecol Sin (生态学报)*, **18**(3): 326 ~ 334 (in Chinese)
- 16 Wang RH, Zhou BL, Zhang FL, et al. 2005. Allelopathic effects of root exudates of eggplants on *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae*). *Allelopathy J*, **15**: 75 ~ 84
- 17 Weidenhamer JD. 1996. Distinguishing resource competition and chemical interference: Overcoming the methodological impasse. *Agron J*, **88**: 866 ~ 875
- 18 Williamson GB, Richardson D. 1988. Bioassay for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls. *J Chem Ecol*, **14**: 181 ~ 187
- 19 Yu P-R (于平儒), Shao H-J (邵红军), Feng J-T (冯俊涛), et al. 2001. Preliminary study on antifungal activity of 62 plant extracts. *J Northwest Sci-Tech Univ of Agric For (西北农林科技大学学报)*, **29**(6): 65 ~ 69 (in Chinese)
- 20 Zhang F-L (张凤丽), Zhou B-L (周宝利), Wang R-H (王茹华), et al. 2005. Allelopathy of root extracts on grafted eggplant. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **16**(4): 750 ~ 753 (in Chinese)
- 21 Zhang M-X (张茂新), Lin B (凌冰), Kong C-H (孔垂华), et al. 2002. Allelopathic potential of volatile oil from *Mikania micrantha*. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **13**(10): 1300 ~ 1302 (in Chinese)
- 22 Zhao X (赵鑫), Zhuo B-L (周宝利), Jiang H (姜荷). 2001. Relation between characteristics of resistance to *Verticillium* wilt of eggplant by graftage and root exudates of eggplant. *Shenyang Agric Univ (沈阳农业大学学报)*, **32**(6): 414 ~ 417 (in Chinese)
- 23 Zhu X-R (祝心如). 1993. Phytochemical ecological research and eco-agricultural construction. *Chin J Ecol (生态学杂志)*, **12**(4): 36 ~ 40 (in Chinese)

作者简介 张凤丽, 1973年生, 博士研究生. 主要从事蔬菜栽培生理生态方面的研究, 发表论文 10 篇. 电子邮箱: zhang-sh024@163.com

责任编辑 张凤丽
