

# 大蒜提取物防治黄瓜黑星病的初步研究\*

王云帆<sup>1</sup>, 王刚<sup>1</sup>, 杨生玉<sup>1</sup>, 程希<sup>1</sup>, 杨之为<sup>2</sup>

(1 河南大学 生命科学学院, 河南 开封 475001;

2 西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 测定了大蒜提取物对黄瓜黑星病菌(*Cladosporium cucumerinum*)的抑制作用和对苗期黄瓜黑星病的防治效果, 并对黑星病菌在经大蒜提取物处理后的黄瓜叶片上的侵染过程进行了组织病理学观察。结果表明, 0.3 g/mL 的大蒜提取物可以完全抑制病菌菌丝生长和分生孢子萌发, 该浓度大蒜提取物能有效预防病菌的侵染, 作用效果优于多菌灵, 但其治疗作用较差。组织病理学研究表明, 大蒜提取物可以有效阻止病菌在叶片上的萌发和附着孢的形成, 从而阻断病菌的侵入过程。

**[关键词]** 黄瓜黑星病菌; 大蒜提取液; 防治效果

**[中图分类号]** S436.421.1<sup>+</sup>9

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2005)10-0007-04

黄瓜黑星病(*Cladosporium cucumerinum*)是黄瓜生产上的一种重要病害, 广泛分布于北美、欧洲和东南亚等地, 随着我国保护地蔬菜生产的发展, 该病已经遍布全国, 尤其对北方菜区的黄瓜生产危害比较严重<sup>[1]</sup>。长期以来, 我国防治黄瓜黑星病的杀菌剂主要为苯并咪唑类的多菌灵、异菌脲等, 但是病菌对上述药剂已经产生了不同程度的抗药性<sup>[2,3]</sup>。因此, 必须寻找新的防治途径以克服病菌的抗药性问题。

植物源农药因具有无残留、低毒、不易产生抗药性, 且易与其他药剂混配等优点, 已成为近年来国内外研究的热点之一<sup>[4]</sup>。我国是大蒜(*Allium sativum*)的主要生产国, 其产量占世界总产量的1/4。大蒜作为一种特殊的蔬菜, 不仅营养丰富, 而且含有特殊的抗菌、抗癌等活性物质。我国利用大蒜开发的大蒜素等药品已经广泛应用于人体的抗菌治疗<sup>[5]</sup>。国外有研究<sup>[6]</sup>表明, 大蒜提取物对柑橘灰霉病具有较好的防治作用, 但对于大蒜提取物用于蔬菜病害的防治研究较少。为此, 本试验进行了大蒜提取物防治黄瓜黑星病的研究, 旨在为开发高效、安全、经济的新型无公害植物源农药奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试黄瓜品种新泰密刺(感病)<sup>[7]</sup>, 由山东省新

泰市雷育黄瓜研究所提供; 白皮大蒜从市场购买; 黄瓜黑星菌由中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供。

### 1.2 大蒜提取物的制备

将新鲜大蒜去皮, 称取300 g 于体积分数75%乙醇中表面消毒1 min, 无菌水冲洗3次后置于组织匀浆机中, 加入100 mL 无菌水, 4 000 r/min 条件下捣成糊状, 然后转入50 mL 离心管中, 于4℃下10 000 r/min 离心10 min, 取上清液经细菌滤膜(0.24 μm)过滤后即为3 g/mL 的大蒜提取物, 将其置于4℃冰箱中保存备用。

### 1.3 大蒜提取物对黄瓜黑星病菌的抑制作用

1.3.1 对黄瓜黑星病菌菌丝生长的抑制作用 采用杯碟法<sup>[8]</sup>, 将大蒜提取物分别按终浓度为0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1和0.05 g/mL 加入已经融化的45℃ PDA 培养基中, 混匀后倒入9 cm 培养皿中, 冷凝后分别接入直径为8 mm 的黑星病菌菌饼, 置20℃下培养, 以不加大蒜提取物而接种菌饼的PDA 平板为对照。每处理设置4个重复, 培养6 d后用十字交叉法测定菌落直径, 根据下式计算抑制效果, 并获得大蒜提取物对病菌的最小抑制浓度: 抑制率/% = [(对照菌落直径- 处理菌落直径)/(对照菌落直径- 原来菌落直径)] × 100%。

1.3.2 大蒜提取物对病菌分生孢子萌发的影响 分别用大蒜提取物和清水配制不同浓度的黄瓜黑星

\* [收稿日期] 2005-03-07

[基金项目] 河南省教育厅自然科学基金(200510475036)

[作者简介] 王云帆(1980-), 女, 河南安阳人, 在读硕士, 主要从事植物病害防治研究。

[通讯作者] 王刚(1971-), 男, 河南商丘人, 副教授, 博士, 主要从事植物病理学研究。E-mail: wangg@henu.edu.cn

病菌分生孢子悬浮液,以无菌水为对照,用载玻片悬滴法<sup>[9]</sup>于20℃培养,当对照孢子萌发达到90%以上时,检查各个处理中分生孢子的萌发率。

#### 1.4 大蒜提取物对黄瓜黑星病室内盆栽防治试验

1.4.1 黄瓜育苗 黄瓜种子用1 g/L 升汞表面消毒5 min,再用无菌水充分洗涤后28℃催芽。播于装有营养土的塑料花盆中,置于25℃光照培养箱中,待长出真叶后进行大蒜提取物防治黑星病试验。

1.4.2 大蒜提取物对黄瓜黑星病的治疗作用 将PDA平板上培养好的病菌用少量无菌水洗下孢子,血球计数板计数,调整浓度为 $2 \times 10^6$ /mL,加入体积分数0.05%的Tween-20,混匀后喷雾接种,然后置于20℃黑暗条件下保湿36 h,在黄瓜叶片上喷最小抑制浓度的大蒜提取物,之后继续培养,分别于接种后4、6 d调查发病情况,确定病害的严重度<sup>[7]</sup>,同时分别设置接种病菌后喷清水和500倍多菌灵(Carben-dazim,天津汉帮公司)作为对照,每处理设10个重复。

1.4.3 大蒜提取物对黄瓜黑星病的预防作用 方法与上述治疗作用类似,差别在于后者先喷大蒜提取物后接种病菌孢子悬浮液,并设置喷清水和500倍多菌灵后接种病菌的处理作为对照。比较大蒜提取物的作用浓度和作用方式(预防作用或者治疗作用),选择最佳浓度用于组织病理学观察。

#### 1.5 大蒜提取物对黄瓜黑星病菌抑制作用的组织病理学观察

在黄瓜真叶上喷大蒜提取物,24 h后利用1.4.2中的接种方法在黄瓜真叶上喷雾接种黄瓜黑星病菌孢子悬浮液,分别于接种后6、12、24、36、48、72、96和120 h取样,将样叶切成1 cm<sup>2</sup>的小块置于福尔马林-冰醋酸-酒精固定液(FAA)<sup>[9]</sup>中固定24 h,转入饱和水合氯醛溶液中透明1 d,取出用1 g/L苯胺蓝溶液染色15 min,最后用体积分数50%酒精脱色后在显微镜下观察,比较不同处理、不同时间病菌的侵染情况。同时取仅接种黑星菌的叶片作为对照。

## 2 结果与分析

### 2.1 大蒜提取物对黄瓜黑星病菌的抑制作用

不同浓度的大蒜提取物对黄瓜黑星病菌生长抑制作用的测定结果见表1。从表1可以看出,不同浓度的大蒜提取物对病菌的抑制作用不同,0.3 g/mL浓度可以完全抑制病菌的生长,低于此浓度时对病菌虽有一定的抑制作用,但随着浓度的降低,抑制能力下降。由表1还可知,当大蒜提取物浓度不低于0.2 g/mL时,可以完全抑制黄瓜黑星病菌分生孢子的萌发。

表1 大蒜提取物对黄瓜黑星病菌的抑制作用

Table 1 Efficacy of garlic extract against *Cladosporium cucumerinum*

处理浓度/(g·mL <sup>-1</sup> ) Treatment concentration	对菌丝生长的抑制作用 Against mycelium growth		对分生孢子萌发的抑制作用 Against conidia spore germination	
	校正菌落直径/mm Adjusted colony diameter	抑制率/% Inhibition rate	萌发率/% Germination rate	抑制率/% Inhibition rate
0.6	0	100	0	100
0.5	0	100	0	100
0.4	0	100	0	100
0.3	0	100	0	100
0.2	1.00±0.32	92.94	0	100
0.1	2.67±0.38	90.58	22.6	
0.05	3.67±0.31	87.05	75.5	
CK	28.33±0.25	-	97.1	-

注:校正菌落直径=菌落直径- $\bar{x}$ 。

Note: Adjusted colony diameter= colony diameter-  $\bar{x}$

综合考虑分析大蒜提取物对病菌菌丝生长和分生孢子萌发的抑制作用,在下一步的盆栽试验中选用浓度0.3 g/mL的大蒜提取物进行病害防治试验。

### 2.2 大蒜提取物对黄瓜黑星病的盆栽防治效果

用浓度0.3 g/mL的大蒜提取物在黄瓜幼苗上测定其对黄瓜黑星病的防治效果,结果见表2。由表

2可以看出,该浓度下大蒜提取物对黄瓜黑星病具有良好的预防作用,接种后4和6 d时预防效果分别达到97.4%和92.7%,超过常用农药多菌灵的预防作用。但其治疗效果较差,接种后4和6 d时治疗效果仅为46.1%和44.1%。由表2还可看出,随着作用时间延长,其预防和治疗效果均会下降。

表2 大蒜提取物对黄瓜黑星病的温室防治效果

Table 2 Efficacy of garlic extract against *Cladosporium cucumerinum* in greenhouse

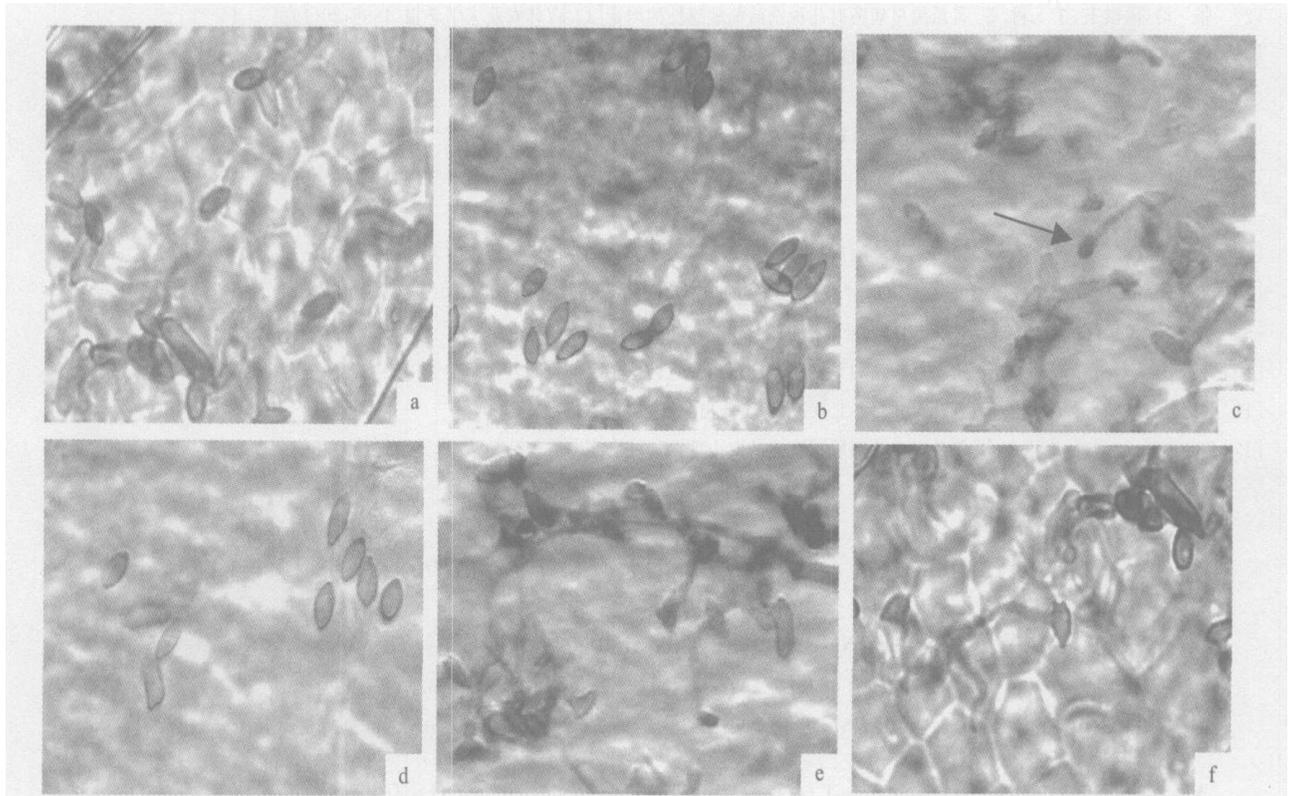
%

处理后时间/d Time after treatment	处理 Treatment	预防作用 Preventive effect		治疗作用 Therapeutic effect	
		病情指数 Disease index	防治效果 Control effect	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect
		4	大蒜提取物 Garlic extract	1.6	97.4
	多菌灵 Carbendazim	22.8	63.3	25.3	59.3
	对照 CK	62.1	-	62.1	-
6	大蒜提取物 Garlic extract	5.9	92.7	45.0	44.1
	多菌灵 Carbendazim	23.1	71.3	28.7	64.3
	对照 CK	80.5	-	80.5	-

2.3 大蒜提取物对黄瓜黑星病菌抑制作用的组织病理学观察

分别在喷有0.3 g/mL 大蒜提取物和清水的黄瓜叶片上接种病菌分生孢子,在接种后不同时间取样并观察病菌的侵入情况,结果见图版1。由图版1可以看出,接种12 h,对照处理叶片上病菌开始萌

发,而经大蒜提取物处理的叶片上病菌没有萌发;接种24 h,对照处理叶片上病菌形成附着孢,而经大蒜提取物处理的病菌仍然没有发现萌发现象;接种后48 h,对照病菌菌丝生长明显,而大蒜提取物处理的病菌仅有部分萌发。



图版 I 大蒜提取物对黄瓜黑星病菌抑制作用的组织病理学观察(400 ×)

a 正常黄瓜叶片上接种病菌12 h 时病菌孢子的萌发情况; b 大蒜提取物处理的黄瓜叶片接种病菌12 h 时未发现孢子萌发; c 正常黄瓜叶片上接种病菌24 h 时病菌孢子的萌发和附着孢形成情况(箭头示病菌形成的附着孢); d 大蒜提取物处理的黄瓜叶片接种病菌24 h 时未发现病菌孢子萌发; e 正常黄瓜叶片上接种病菌48 h 时病菌菌丝的生长情况; f 大蒜提取物处理的黄瓜叶片接种病菌48 h 时部分孢子开始萌发

Plate I Histopathological observation of garlic extract against *Cladosporium cucumerinum* (10 × 40)

a Spore germination of the pathogenic fungi on cucumber leaf after inoculation 12 h; b No spore germination of the fungi on cucumber leaf treated by garlic extract after inoculation 12 h; c Spore germination and appressorium formation (arrow) of the fungi after inoculation 24 h; d No spore germination of the fungi treated by garlic extract after inoculation 24 h; e Mycelium growth of the fungi after inoculation 48 h; f Spore germination of the fungi treated by garlic extract after inoculation 48 h

从接种后3 d 开始,对照处理的叶片上病菌菌丝在显微镜下模糊不清,表明菌丝已经侵入叶肉组

织,而大蒜提取物处理后的病菌菌丝清晰地分布于叶片表面,并且没有发现附着孢,表明菌丝仅在叶片表面生长,而未侵入叶肉组织。由此可见,大蒜提取物对病菌的抑制作用主要是通过抑制病菌的萌发、阻止病菌的侵入来发挥作用的。

### 3 讨论

化学杀菌剂的广泛使用,在保障农作物高产和稳产方面发挥了巨大作用。然而由于传统化学杀菌剂的长期使用,导致病菌产生抗药性,迫使人们加大用药剂量,由此导致了越来越严重的环境问题<sup>[10]</sup>。因此,寻求和开发对人类健康和生态环境安全的新型杀菌剂越来越迫切。近年来,包括大蒜(*Allium*

*sativum*)、银杏(*Ginkgo biloba*)和新疆紫草(*Amaranthus tricolor*)等在内的很多植物的提取物被证明具有抗真菌活性<sup>[11,12]</sup>,但是我国真正产业化的植物源杀菌剂还未出现。

本研究测定了大蒜提取物对黄瓜黑星病的防治作用,结果表明大蒜提取物可以显著抑制病菌孢子萌发和菌丝生长,对该病害具有明显的预防作用,同时发现其治疗作用较差。通过组织病理学观察,进一步确认该物质对于病菌萌发和菌丝生长具有抑制作用,并且可以明显抑制病菌附着孢的形成。至于对病菌的抑制效果是大蒜素单独作用的结果还是多种物质协同作用的结果,以及大蒜提取物是否具有诱导植物提高抗病能力的作用,尚需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 李宝聚,周长力,赵奎华,等. 黄瓜黑星病菌致病机理的研究[J]. 植物病理学报, 1999, 29(4): 349- 353
- [2] 张浩,潘洪玉,丁利,等. 黄瓜黑星病菌对几种杀菌剂敏感性的测定[J]. 吉林农业大学学报, 1998, 20(1): 13- 15
- [3] 闫秀琴,刘慧平,韩巨才. 我国植物病原菌抗药性的研究进展[J]. 农药, 2001, 40(12): 4- 6
- [4] 李永夫,罗安程. 植物源农药的研究和应用进展[J]. 科技通报, 2003, 19(5): 434- 438
- [5] 杨凤娟,刘世琦. 大蒜素研究进展[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(6): 1034- 1037
- [6] Obagwu J, Korsten L. Control of citrus green and blue molds with garlic extracts[J]. European Journal of Plant Pathology, 2003, 109(3): 221- 225
- [7] 李保聚,李风云,苗则彦,等. 用黄化子叶喷雾接种法鉴定黄瓜黑星病抗性[J]. 中国蔬菜, 1997, 6: 4- 6
- [8] 王刚,杨之为. 荧光假单胞菌P2-5菌株对小麦全蚀病的抑制作用[J]. 植物保护, 2004, 30(4): 32- 35
- [9] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 152
- [10] 王文桥,刘国容,张小凤. 葡萄霜霉病菌和马铃薯晚疫病病菌对三种杀菌剂的抗药性风险研究[J]. 植物病理学报, 2000, 30(1): 48- 52
- [11] 吴文君,高希武. 生物农药及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 42- 43
- [12] 梁彩萍,张国珍,李重九. 紫草色素对番茄叶霉病菌的室内抑菌活性研究[J]. 农药学报, 2004, 6(3): 48- 52

## Study on control of *Cladosporium cucumerinum* by garlic extract

WANG Yun-fan<sup>1</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>, YANG Sheng-yu<sup>1</sup>, CHENG Xi<sup>1</sup>, YANG Zhi-wei<sup>2</sup>

<sup>1</sup> College of Life Sciences, Henan University, Kaifeng, Henan 475001, China;

<sup>2</sup> College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Garlic extract was used to test the inhibitory action on the fungi of *Cladosporium cucumerinum* and the control efficacy on the disease of cucumber scab in seedlings. The histopathological changes of infection process of the fungus on the leaves treated with garlic extract were observed. The results showed that 0.3 g/mL of garlic extract could inhibit mycelium growth and conidia spore germination of the fungus completely and such concentration of garlic extract could prevent plants against the infection of the fungus effectively. It was found that the preventive effect of garlic extract against the disease was better than that of the commonly used fungicide Carbendazim, but the therapeutic effect was weaker than that of the latter. Histopathological observation found that 0.3 g/mL of garlic extract could effectively inhibit conidia spore germination and appressorium formation of the fungus on the leaves and block the fungus to penetrate into leaf tissue.

**Key words:** *Cladosporium cucumerinum*; garlic extract; control efficacy