

# 大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌的抑杀效应\*

宋 莉, 程智慧, 孟焕文

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 采用菌丝生长速率法及孢子萌发法, 研究了大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病(*Fusarium oxysporium f. niveum* Snyder et Heansen) 病菌的抑杀效应。结果表明, 随大蒜鳞茎粗提物质量浓度的增加, 对西瓜枯萎病菌的抑制作用增强, 大蒜鳞茎粗提物的最低抑菌质量浓度(MIC)为 0.156 25 mg/mL; 当大蒜鳞茎粗提物的质量浓度达到 10 mg/mL 时, 对病菌孢子萌发的抑制率达 100%; 质量浓度达到 20 mg/mL 时, 抑菌圈直径最大, 为 5.7 mm, 对病菌菌丝生长的抑制率达到 100%, 与对照差异达极显著水平。说明大蒜鳞茎粗提物可有效抑杀西瓜枯萎病菌。

[关键词] 大蒜; 鳞茎粗提物; 西瓜枯萎病; 抑杀效应; 抑菌率

[中图分类号] S436.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)03-0135-04

## Study on inhibitive effects of garlic bulb crude extracts on *Fusarium oxysporium f. niveum* Snyder et Heansen

SONG Li, CHEN G Zhi-hui, MENG Huan-wen

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** The inhibitive effects of garlic bulb crude extracts on *Fusarium oxysporium f. niveum* Snyder et Heansen was studied by measuring the inhibitive effects on pathogen spore germination and mycelia growth in lab culture dish. The results showed that the minimum inhibitive concentration (MIC) was 0.156 25 mg/mL; with the increase of garlic bulb crude extracts concentration, the inhibited circle and the inhibitive rates to mycelia growth and spore germination of the pathogen increased. The inhibitive rate to spore germination reached 100% when the concentration of garlic bulb crude extracts increased to 10 mg/mL, and the pathogen inhibited circle reached the biggest, 5.7 mm, and the mycelia growth inhibitive rate reached 100% when the concentration of garlic bulb extracts increased to 20 mg/mL. So conclusion can be drawn that garlic bulb crude extracts are effective to inhibit *Fusarium oxysporium f. niveum*.

**Key words:** garlic; bulb crude extracts; *Fusarium oxysporium f. niveum*; inhibitive effect on pathogen; pathogen inhibitive rate

大蒜(*Allium sativum* L.)是百合科葱属形成地下鳞茎的蔬菜,含有多种硫化物和稀有元素,有极高的药理价值,其有效成分具有抗真菌作用<sup>[1]</sup>。大蒜中含有的挥发性物质、大蒜浸出液及大蒜粥对多种人类致病真菌都有抑制和杀灭作用,低浓度的大蒜提

取物主要抑制真菌生长,可使其迟缓期延长 32 h;高浓度的大蒜提取物可完全杀死真菌<sup>[2]</sup>。但有关大蒜对植物病害的抑菌作用及其防病效果研究较少。

西瓜(*Citrullus lanatus*)是我国普遍栽培的一种重要水果,连作病害是制约西瓜生产发展的因素之

\* [收稿日期] 2006-02-24

[基金项目] 国家“十五”科技攻关项目(2004BA516A09)

[作者简介] 宋莉(1980-),女,宁夏吴忠人,在读硕士,主要从事蔬菜栽培生理研究。

[通讯作者] 程智慧(1958-),男,陕西兴平人,教授,博士,博士生导师,主要从事蔬菜栽培生理生态研究。E-mail: chengzh@nw.uaaf.edu.cn

一。目前, 常年发生并造成较严重损失的西瓜病害有 10 余种, 其中土传病害枯萎病、根腐病、疫病等尤为严重。轮作虽然可有效控治土传病害, 但西瓜要求 5~7 年以上的轮作制, 在大面积种植西瓜的地区难以实施。因此, 生产中主要还是采用化学药剂防治病害, 虽有一定效果, 但所引起的病原菌抗药性、对水土资源的污染, 及对有益微生物的伤害等问题越来越引起人们的重视<sup>[3-4]</sup>。寻求抑菌植物并应用植物制剂, 尤其是经简易处理直接利用的植物制剂控制农作物病虫害, 是当今病虫害控制研究的热点之一。

林辰壹等<sup>[5-6]</sup>研究表明, 大蒜提取液对食用菌杂菌和瓜类病原菌有抑杀作用; 马惠玲等<sup>[7]</sup>研究表明, 不同蒜素制剂对果实病原菌有不同的抑菌能力; 王云帆等<sup>[8]</sup>研究表明, 0.3% 大蒜提取物可以完全抑制黄瓜黑星病菌丝生长和分生孢子萌发, 有效预防病菌的侵染, 其作用效果优于多菌灵。金扬秀等<sup>[9]</sup>调查发现, 大蒜与瓜类轮作可大大降低枯萎病的发病率。本研究通过室内抑菌试验, 探讨了大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病的抑菌作用, 以期为该病害的无公害化控制提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试大蒜购于陕西杨凌, 为市售紫皮大蒜新鲜鳞茎; 西瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporium* f. *niveum* Snyder et Heansen), 由西北农林科技大学资源环境学院土壤微生物课题组提供。

### 1.2 大蒜鳞茎粗提物的制备

选取无霉变的新鲜大蒜鳞茎, 剥皮后去茎盘, 准确称量 8 000 g 鳞茎, 加入 100 mL 无菌水研磨, 过滤除去滤渣, 上清液用无菌过滤器(微孔滤膜, 孔径 0.45 μm) 过滤后, 配制成质量浓度为 80 mg/mL 的母液, 采用两倍稀释法逐步稀释成 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 5 mg/mL 等需要的质量浓度<sup>[10]</sup>。此过程所用器具均经高温高压灭菌, 并在无菌操作台上进行。

### 1.3 大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌抑菌圈测定

采用滤纸片法测定<sup>[11]</sup>。用孢子悬浮培养法将西瓜枯萎病菌在水琼胶培养基中培养至  $10^4 \sim 10^5$  mL<sup>-1</sup> 孢子浓度, 取 100 μL 该浓度的孢子悬浮液于 PDA 培养基上涂布成含菌平板。

用打孔器将滤纸打成直径 9 mm 圆片, 灭菌后分别浸入 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 mg/mL 大蒜鳞茎粗提物中 30 min, 取出沥干, 放在含菌平板上, 每

皿 2 个滤纸片, 每处理 3 皿。以滤纸片浸入无菌水为对照(CK)。28 ℃ 黑暗培养, 1 d 后测定抑菌圈直径。

### 1.4 大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌丝生长抑制效应的测定

1.4.1 含有大蒜鳞茎粗提物培养基的制备 将 PDA 培养基灭菌, 待稍凉后将不同质量浓度的大蒜鳞茎粗提物与等体积的培养基混匀, 分别制成含大蒜鳞茎粗提物质量浓度 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 5, 0.156 25 和 0 mg/mL (CK) 的平板培养基, 待其凝固后接种病菌。

1.4.2 平板菌落的制备 将活化好的菌丝用无菌水配制成孢子浓度  $10^4 \sim 10^5$  mL<sup>-1</sup> 的菌悬液, 吸取 100 μL 菌悬液于 PDA 平板中, 用无菌玻璃刮铲刮平。28 ℃ 黑暗条件下培养 3 d, 待菌落长满平板后用于制备菌落圆片。

1.4.3 抑菌效应和最低抑菌质量浓度的确定 采用生长速率法<sup>[12]</sup>。用直径 7 mm 的打孔器打取菌落圆片, 取菌落圆片置于含有大蒜鳞茎粗提物的平板培养基中央, 每皿 1 片, 每处理 3 皿, 以无菌水培养基为对照(CK)。置于 28 ℃ 黑暗条件下培养, 3 d 后测量菌落扩展直径, 计算菌丝抑制率, 并确定最低抑菌质量浓度(MIC)。

抑制率/% = (对照皿菌落直径 - 处理皿菌落直径) / 对照皿菌落直径 × 100%。

### 1.5 大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌孢子抑制效应的测定

将培养好的病菌加入无菌水中, 配制成在 40 倍物镜下每视野 20 个孢子左右的菌悬液。吸取 100 μL 菌悬液, 与等体积不同质量浓度(0~10 mg/mL) 的大蒜鳞茎粗提物混匀。在铺有滤纸的培养皿中放入载玻片, 用直径 15 mm 的打孔器打取配制好的水琼胶培养基移于载玻片上, 每皿 2 个。吸取菌悬液与大蒜鳞茎粗提物的混合液 20 μL 于培养基圆片上, 28 ℃ 黑暗培养, 镜检病原菌孢子萌发情况。孢子芽管的长度超过孢子直径长度 1/2 的确定为已萌发孢子。计算孢子萌发率和抑制率:

孢子萌发率/% = 孢子萌发数 / 总的孢子数 × 100% ;

孢子萌发抑制率/% = (对照孢子萌发数 - 处理孢子萌发数) / 对照孢子萌发数 × 100%。

### 1.6 数据处理

试验数据采用 DPS 软件进行统计分析, Duncan 新复极差法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 鳞茎粗提取物对西瓜枯萎病菌的抑菌圈测定

由图 1 可以看出, 随大蒜鳞茎粗提取物质量浓度的升高, 抑菌圈直径逐渐增大。当大蒜鳞茎粗提取物质量浓度达 20 mg/mL 时, 抑菌圈直径最大, 为 5.7 mm, 与对照差异达极显著水平。说明一定质量浓度的大蒜鳞茎粗提取物对西瓜枯萎病菌有抑制效应。

### 2.2 鳞茎粗提取物对西瓜枯萎病菌丝的抑制效应

由表 1 可以看出, 随大蒜鳞茎粗提取物质量浓度的增加, 对西瓜枯萎病菌丝生长的抑制作用增强。大蒜鳞茎粗提取物质量浓度为 5 mg/mL 时, 抑菌率为 57.09%, 与对照差异达极显著水平; 大蒜鳞茎粗提取物质量浓度增加到 10 mg/mL 时, 抑菌率达 76.47%, 与 5 mg/mL 处理间又有极显著差异; 大蒜粗提取物质量浓度增加到 20 mg/mL 时, 抑菌率达到

100%, 与其他各处理及对照的差异均达极显著水平。

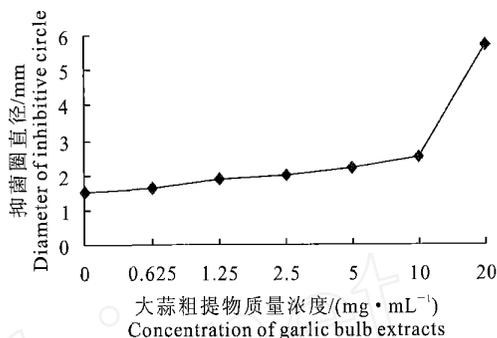


图 1 不同质量浓度大蒜鳞茎粗提取物对西瓜枯萎病菌的抑菌效果

Fig 1 Effect of garlic bulb crude extracts on inhibited circle of *Fusarium oxysporum* f *niveum*

表 1 不同质量浓度大蒜鳞茎粗提取物对西瓜枯萎病菌丝生长的抑制效应

Table 1 Inhibitive effects of garlic bulb crude extracts on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f *niveum*

大蒜鳞茎粗提取物质量浓度/(mg · mL <sup>-1</sup> ) Concentration of garlic extracts	菌落扩展直径/cm Diameter of colony				平均 Average	抑菌率/% Inhibition rate
	1	2	3			
20	0.00	0.00	0.00		0.00 gG	100.00 gG
10	0.40	0.40	0.40		0.40 fF	76.47 fF
5	0.70	0.70	0.80		0.73 eE	57.09 eE
2.5	0.90	1.00	1.00		0.97 dD	42.94 dD
1.25	1.20	1.40	1.40		1.33 cC	21.46 cC
0.625	1.50	1.50	1.50		1.50 bB	11.76 bB
0.3125	1.50	1.60	1.70		1.60 abAB	5.88 abAB
0.15625	1.60	1.70	1.70		1.67 aAB	1.69 aAB
0(CK)	1.70	1.60	1.80		1.70 aA	0.00 aA

注: 不同小写英文字母表示在  $\alpha=0.05$  水平上有显著性差异, 不同大写英文字母表示在  $\alpha=0.01$  水平上有极显著性差异。表 2 同。

Note: Different small English letters indicate distinct difference at the level of  $\alpha=0.05$ ; different capital letter indicate significant difference at the level of  $\alpha=0.01$ . The same as Table 2

表 2 不同质量浓度大蒜鳞茎粗提取物对西瓜枯萎病菌孢子的抑制效应

Table 2 Inhibitive effects of garlic bulb crude extracts on gemination of *Fusarium oxysporum* f *niveum* spores

大蒜鳞茎粗提取物质量浓度/(mg · mL <sup>-1</sup> ) Concentration of garlic extracts	平均孢子萌发数 Mean number of geminated spores	孢子萌发率/% Gemination rate	孢子萌发抑制率/% Inhibitive rate
10	0	0	100.00 eE
5	0.85	4.25	93.15 deDE
2.5	4.25	21.25	65.73 cdDE
1.25	6.10	30.50	50.81 cCD
0.625	6.95	34.75	43.95 bBC
0.3125	10.70	53.50	13.71 bAB
0(CK)	12.40	62.00	0.00 aA

### 2.3 鳞茎粗提取物对西瓜枯萎病菌孢子的抑制效应

由表 2 可见, 随着大蒜鳞茎粗提取物质量浓度的增加, 西瓜枯萎病菌孢子萌发抑制率增加。大蒜鳞茎

粗提取物质量浓度在 0~0.625 mg/mL 时, 随大蒜鳞茎粗提取物质量浓度的增加, 西瓜枯萎病菌孢子萌发抑制率急剧增加, 0.3125 mg/mL 和 0.625 mg/mL

质量浓度处理的孢子萌发抑制率分别与对照有显著和极显著差异;大蒜鳞茎粗提物质量浓度达 0.625 mg/mL 以上时均对孢子萌发有极显著的抑制作用;在 0.625~5.0 mg/mL,随着大蒜鳞茎粗提物质量浓度的增加,病菌孢子萌发抑制率增势减缓,但仍较快;大蒜鳞茎粗提物质量浓度达 5 mg/mL 以上时,随着质量浓度的增大,病菌孢子萌发抑制率增加缓慢;当大蒜鳞茎粗提物质量浓度达 10 mg/mL 时,病菌孢子萌发抑制率达 100%。

### 3 结论与讨论

大蒜提取物中的活性成分对许多植物病原真菌和食用菌杂菌有较强的抑制作用。从秋葵、番茄和小麦根际土壤中分离的 18 种真菌均不同程度地受大蒜提取液的抑制<sup>[13]</sup>。大蒜提取液明显抑制番茄早疫病菌(*A. lternaria solani*)菌丝生长和孢子萌发,对两种丝核菌(*Rhizoctonia solani*和*Rhizoctonia bataticola*)和小核菌(*Sclerotium* sp.)的菌丝生长有抑制作用,并对这两种病原菌侵染引发的作物病害有良好的治疗和保护作用<sup>[14-15]</sup>。林辰壹等<sup>[5-6]</sup>报道,大蒜提取液对青霉、曲霉、根霉、木霉等 4 种食用菌竞争性杂菌和瓜类蔬菜病原菌有抑制作用。马惠玲等<sup>[7]</sup>研究认为,蒜素含量与其对果实病原菌的抑制作用呈一定的相关关系。王云帆等<sup>[8]</sup>研究表明,0.3 g/mL 大蒜提取物可以完全抑制黄瓜黑星病菌菌丝生长和孢子萌发,可有效预防菌丝侵染,其作用效果优于多菌灵,但治疗作用较差。

本试验利用生长速率法测定了不同质量浓度大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌丝生长的抑制作用,结果表明,大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌丝生长有抑制作用,当大蒜鳞茎粗提物质量浓度为 5 mg/mL 时,抑菌率达 57.09%,与对照差异达极显著水平;当大蒜鳞茎粗提物质量浓度达到 20 mg/mL 时,抑菌率达到 100%,与对照间差异极显著。当大蒜鳞茎粗提物质量浓度降低到 0.156 25 mg/mL 时,抑菌率为 1.96%,与对照差异不显著,因此初步认为,大蒜鳞茎提取物的最低抑菌质量浓度(MIC)为 0.156 25 mg/mL。利用孢子萌发法测定不同质量浓度大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌孢子萌发的抑制作用,结果表明,大蒜鳞茎粗提物对西瓜枯萎病菌孢子萌发有抑制作用,当大蒜鳞茎粗提物质量浓度达 10 mg/mL 时,孢子萌发抑制率达 100%,与对照差异达极显著水平。

以上结果表明,一定质量浓度的大蒜鳞茎粗提

物对西瓜枯萎病有明显的抑制作用,这为进一步应用大蒜鳞茎粗提物防治西瓜枯萎病提供了参考。

本研究在大蒜鳞茎粗提物对病原菌菌丝的抑制效应试验中发现,对照皿内菌饼向四周生长较快,气生菌丝生长旺盛,外缘轮廓为多边形;而含大蒜鳞茎粗提物的处理皿内均无气生菌丝生长,当培养时间较长时,含低质量浓度大蒜鳞茎粗提物的皿内虽有少量气生菌丝开始生长,但其菌丝外缘轮廓始终为圆形。由此可以推测,大蒜鳞茎粗提物可能影响了西瓜枯萎病菌丝的形态和生长方式,这还有待进一步深入研究。

### [参考文献]

- [1] 宋卫国,李宝聚,刘开启.大蒜化学成分及其抗菌活性机理研究进展[J].园艺学报,2004,31(2):263-268
- [2] Mohammad S F. Characterization of a potent inhibitor of platelet aggregation and release reaction isolated from *Allium sativum* (garlic) [J]. Thromb Res, 1986, 44(6): 793-806
- [3] 何丽莲,李元.农田土壤污染的综合治理[J].云南农业大学学报,2003(4):430-434
- [4] 米长虹,黄士忠,王继军.农药对农田土壤的污染及防治技术[J].农业环境与发展,2000(4):23-25
- [5] 林辰壹,程智慧.大蒜提取液对食用菌杂菌的作用[J].广东微量元素科学,1997,24(4):343-347
- [6] 林辰壹,郑成锐,程智慧.新疆吉姆萨尔白皮蒜提取液对瓜类病原菌抑杀效应的研究[J].新疆农业大学学报,2002,25(2):53-56
- [7] 马惠玲,弓弼,漆录平,等.不同蒜素制剂对果实病原菌抑菌能力的研究[J].西北农业大学学报,1998,26(3):81-85
- [8] 王云帆,王刚,杨生玉,等.大蒜提取物防治黄瓜黑星病的初步研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2005,33(10):7-10
- [9] 金扬秀,谢关林,孙祥良.大蒜轮作与瓜类枯萎病发生的关系[J].上海交通大学学报:农业科学版,2003,21:9-12
- [10] 马绪荣,苏德模.药品微生物检测手册[M].北京:科学出版社,2000
- [11] 王玲,张富宝.中药提取色素的抑菌作用研究[J].食品工业科技,2000,21(6):27-28
- [12] 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,1988:123-157
- [13] Muhsin T M, Zubaidy A L S R, Ali E T. Effect of garlic bulb extract on the growth and enzymatic activities of rhizosphere and rhizoplane fungi[J]. Mycopathology, 2001, 152(3): 143-146
- [14] Babu S, Seetharaman K. Fungitoxic properties of some plant extracts against *A. lternaria solani*, the tomato leaf blight pathogen [J]. Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring, 2000, 10(2): 157-159
- [15] Sindhan G S, Indra H. Effect of some plant extracts on the vegetative growth of root rot causing fungi[J]. Journal of Mycology and Plant Pathology, 1999, 29(1): 110-111