

孜然提取物对几种病菌生物活性的初步研究*

张应烙, 冯俊涛, 王汝贤, 邵红军, 张 兴

(西北农林科技大学 无公害农药研究中心, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 以孜然种子丙酮提取物为材料, 测定了其对几种病菌的生物活性。结果表明, 在供试质量浓度为0.05 g/mL时, 粗提物对所有供试真菌菌丝生长抑制率均大于75%; 在供试质量浓度为0.1 g/mL时, 对稻瘟病菌孢子萌发抑制率大于90%; 在供试质量浓度为0.04 g/mL时, 盆栽试验显示其对白菜黑斑病、稻瘟病及黄瓜霜霉病的保护作用均达60%以上, 对稻瘟病治疗作用达89.5%以上。孜然作为植物源杀菌剂值得进一步研究。

[关键词] 植物源杀菌剂; 孜然提取物; 生物活性

[中图分类号] S481⁺.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)05-0077-03

孜然(*Cum inum cym inum* L.)为伞形花科孜然芹属1年或2年生草本植物, 具有刺鼻的香味, 原产于埃及、埃塞俄比亚, 我国新疆、甘肃河西走廊地区有大量种植, 前苏联、地中海地区、伊朗、印度及北美也有栽培。在我国新疆维吾尔族和哈萨克族民间, 其果实常被研成粉末作为食品中的调料, 其果实也可入药, 治疗消化不良、胃寒腹痛等症^[1]。国内外报道其有农用抗菌活性^[2~4]。本研究在前人研究的基础上, 测试了孜然种子丙酮提取物对几种植物病菌的生物活性, 旨在为其进一步开发利用提供线索。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌种 小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、小麦条锈病菌(*Puccinia striiformis*)、稻瘟病菌(*Pyricularia grisea*)均由西北农林科技大学植物病理研究所提供; 棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*)由石河子大学农学院植病教研室提供; 水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas campestris* p.v. *oryzae*)由浙江化工研究院生测部提供; 苹果霉心病菌(*Trichotrichum roseum*)、白菜黑斑病菌(*Alternaria oleracea*)、黄瓜炭疽病菌(*Colletotrichum lagenarium*), 均从田间采集、分离鉴定及纯化后使用; 黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*)为从田间采集鉴定后使用。

盆栽作物 白菜(小白口); 黄瓜(津研七号); 小

麦(辉县红); 棉花(新1304); 水稻(土杂优)。

供试药剂 质量分数64%杀毒矾可湿性粉剂(诺华农化江苏有限公司); 质量分数70%甲基硫菌灵可湿性粉剂(国营江阴农药厂); 质量分数15%粉锈宁可湿性粉剂(湖北天门农药有限公司); 质量分数40%多菌灵可湿性粉剂(上海吴淞化工厂)。

1.2 孜然提取物的制备

孜然种子由甘肃省玉门市农业技术推广中心提供, 经自然干燥后, 以冷浸法用丙酮提取3次, 合并滤液后浓缩, 使其最终质量浓度为1 g/mL, 具体提取过程参照冯俊涛等的方法^[5]。

1.3 孜然提取物抑菌活性测定

孜然提取物对病原菌菌丝生长的作用和对孢子萌发抑制的作用分别采用生长速率法^[6]及载玻片法^[7]测定。对菌丝生长抑制作用设2个浓度, 分别为0.05, 0.0125 g/mL。0.05 g/mL带毒培养基的制备: 取1.2所制备的孜然提取物0.5 mL于灭菌的10 mL试管中, 加入9.5 mL 50%左右PDA, 摆匀, 倒入灭菌培养皿中即成。0.0125 g/mL带毒培养基的制备: 先用丙酮对1.2所制备的提取物稀释4倍, 下同0.05 g/mL带毒培养基的制备。对孢子萌发抑制作用设1个浓度, 为0.1 g/mL, 直接用丙酮对1.2所制备的提取物稀释10倍即成。

1.4 孜然提取物防病试验

提取物对8种病害的药效采用盆栽试验法^[6]。每毫升孜然提取物加0.02 g Tween 80, 用自来水稀释25倍, 使最终质量浓度为0.04 g/mL。设丙酮、清

* [收稿日期] 2002-10-08

[基金项目] 国家“十五”攻关项目(2002BA516A04)

[作者简介] 张应烙(1976-), 男, 江西上饶人, 在读硕士, 主要从事病害综合防治及植物源杀菌剂研究。

水、药剂3个对照。对照药剂及试验浓度分别为：对白菜黑斑病为杀毒矾1280 mg/L；对小麦条锈病为粉锈宁1500 mg/L；对黄瓜霜霉病为杀毒矾2000 mg/L；对黄瓜炭疽病为甲基硫菌灵1000 mg/L；对小麦纹枯病为粉锈灵100 mg/L；对棉花枯萎病为多菌灵500 mg/L。待清水对照充分发病后调查病情，计算防治效果，计算提取物药效时用丙酮作对照，计算对照药剂药效时用清水作对照。

病情分级标准：白菜黑斑病参照李广东等的方法^[8]；小麦条锈病、稻瘟病参照国家统一标准^[9]；黄瓜霜霉病参照余国辉的方法^[10]；黄瓜炭疽病参照李洪奎等的方法^[11]；水稻白叶枯病参照方中达的方法^[7]；小麦纹枯病参照岳红宾等的方法^[12]；棉花枯

萎病参照杨昌林等的方法^[13]。

2 结果与分析

2.1 提取物对6种病原菌菌丝生长的抑制作用

由表1知，在提取物浓度为0.05 g/mL时，孜然提取物对小麦纹枯病菌、苹果霉心病菌、白菜黑斑病菌、棉花枯萎病菌4种病原菌表现出强烈的抑制作用，抑制率均为100%，对稻瘟病菌和黄瓜炭疽病菌抑制率也较高，均在75%以上；在浓度为0.0125 g/mL时，提取物对小麦纹枯病菌及苹果霉心病菌也表现出强烈的抑制作用，抑制率为100%，对白菜黑斑病菌及棉花枯萎病菌的抑制率均大于70%。

表1 孜然提取物对6种病原菌菌丝生长的抑制作用

Table 1 Inhibition of *Cum inum cym inum* extract on hypha of 6 kinds of pathogen fungi

供试菌 Fungi	0.05 g/mL		0.0125 g/mL		对照菌落 直径/mm CK colony diameter
	菌落直径/mm Colony diameter	抑制率/% Inhibition rate	菌落直径/mm Colony diameter	抑制率/% Inhibition rate	
小麦纹枯病菌 <i>R. cerealis</i>	0.00	100.0	0.00	100.0	38.00
苹果霉心病菌 <i>T. roseum</i>	0.00	100.0	0.00	100.0	43.25
稻瘟病菌 <i>P. grisea</i>	4.43	89.5	24.17	41.0	41.00
白菜黑斑病菌 <i>A. oleracea</i>	0.00	100.0	8.33	73.8	31.75
黄瓜炭疽病菌 <i>C. lagenarium</i>	5.00	78.7	14.00	40.4	23.50
棉花枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	0.00	100.0	10.50	74.2	40.67

2.2 提取物对几种病原菌孢子萌发的抑制作用

表2表明，在供试质量浓度为0.1 g/mL时，孜然提取物对稻瘟病菌孢子萌发抑制作用达90%以上，对其他2种病原菌孢子几乎没有抑制作用。

2.3 提取物温室盆栽防病效果

由表3知，在供试质量浓度为0.04 g/mL时，孜然提取物对白菜黑斑病和稻瘟病害保护作用药效均达80%以上，对黄瓜霜霉病药效达60%以上，但药效均不及相应的对照药剂；治疗作用除对稻瘟病作用突出外，对其余病害作用均较差。

表2 孜然提取物对3种病原菌孢子萌发的抑制作用

Table 2 Inhibition of *Cum inum cym inum* extract

on spore of 3 kinds of pathogen fungi %

供试菌 Fungi	萌发率 Emergence rate of spore		抑制率 Inhibi- tion rate
	0.1 g/mL 提取物	0.1 g/mL extract	
稻瘟病菌 <i>P. grisea</i>	5.6	98.0	94.2
白菜黑斑病菌 <i>A. oleracea</i>	91.0	91.9	1.2
棉花枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	99.1	91.9	-

表3 孜然提取物对8种病害的药效

Table 3 Controlling effect of *Cum inum cym inum* extract to 7 kinds of plant diseases

病害 Plant diseases	保护作用药效 Protective effect		治疗作用药效 Curative effect	
	孜然 <i>C. cym inum</i>	对照药剂 CK Fungicides	孜然 <i>C. cym inum</i>	对照药剂 CK Fungicides
白菜黑斑病 Black rot of Chinese cabbage	89.5	100	25.5	23.2
小麦条锈病 Wheat stripe rust	23.0	100	0.2	100
黄瓜霜霉病 Cucumber downy mildew	63.7	98.8	26.9	19.9
黄瓜炭疽病 Cucumber anthracnose	35.4	94.0	2.3	98.4
稻白叶枯病 Rice bacterial leaf blight	20.7	/	4.1	/
小麦纹枯病 Sharp eye spot of wheat	-	39.7	21.7	63.9
棉花枯萎病 Fusarium wilt of cotton	44.5	68.7	/	/
稻瘟病 Rice blast	83.3	/	87.5	/

注：所有植物样品质量浓度均为0.04 g/mL；“-”表示有促进作用，“/”表示未做相应试验。

Note: The concentrations are all 0.04 g/mL; “-” means promotion; “/” means not doing experiment

3 小结与讨论

我国是世界上蔬菜生产第一大国,但蔬菜种植中使用高毒、高残留农药现象还普遍存在^[14]。药物漂白和农药残留已成为我国蔬菜及其产品进入日本、韩国市场的主要障碍^[15]。本研究表明,孜然对黄瓜霜霉病、白菜黑斑病2种叶斑类病害保护作用较好,孜然本身能被用作香料,对人类无害,对其深入研究可能会开发出无公害叶斑类蔬菜病害杀菌剂,对我国无公害蔬菜生产具有一定的重要意义,所以孜然作为无公害杀菌剂值得进一步研究与开发。

植物源杀菌剂初筛宜采用离体与活体相结合的方法,而以活体盆栽试验为主。本研究结果表明,孜然对有些植物病害的离体、活体活性不相关,如孜然

对小麦纹枯病菌离体活性很高,但对其盆栽活性较差。离体试验与大田病害防治的实际差距太大^[16],而盆栽试验与大田病害防治的实际差距相对较小。因此,植物源杀菌剂初筛时应以活体盆栽试验为主。但活体盆栽试验周期相对较长,为减少试验周期,供试菌的选择除满足能简便繁殖、分类上有代表性而又具有重要经济意义等条件外^[16],还应注意选择能使作物苗期易发病(即潜育期短)的病原菌。

本研究结果表明,孜然对稻瘟病药效突出,但试验中发现孜然对稻苗有药害,易使稻苗叶片褪绿、微发黄,这可能与孜然浓度太高有关。

孜然对稻苗产生药害的具体原因和孜然有效成分的分离纯化,以及孜然对病原菌的作用机制有待于进一步研究、探讨。

致谢: 西北农林科技大学植保学院九八级马洪菊、罗序敏同学参与了部分生测工作,在此表示感谢!

[参考文献]

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第五十五卷(第二分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [2] 韩建华, 祝木金, 冯俊涛, 等. 27种植物抑菌活性初步筛选[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(6): 134- 137.
- [3] Purohit P, Bohra A. Effect of seed leachates of spice plants on spore germination of some seed-borne fungi[J]. Journal of Mycology and Plant Pathology, 1999, 29(1): 134- 135.
- [4] Suresh K D, Dwivedi S, Dubey N K. Antifungal activity of *Cum inum cym inum* seed oil against *A sp ergillus f lavus* infesting seeds of *Cyamopsis tetragonoloba* L. (Taub.) [J]. International Journal of Tropical Plant Diseases, 1992, 10(2): 203- 207.
- [5] 冯俊涛, 石勇强, 张兴. 56种植物抑菌活性筛选试验[J]. 西北农林科技大学学报, 2001, 29(2): 65- 68.
- [6] 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.
- [7] 方中达. 植病研究方法[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [8] 李广东, 李燕娥, 薛建兵, 等. 大白菜黑斑病抗性遗传规律[J]. 中国蔬菜, 2000, (1): 17- 19.
- [9] 中国农业标准汇编. 植保与农药卷(上册)[M]. 北京: 中国标准出版社, 1998.
- [10] 余国辉. 灭克防治黄瓜霜霉病田间药效[J]. 农药, 2002, 41(2): 27.
- [11] 李洪奎, 孟庆治. 大棚黄瓜霜霉病、炭疽病药剂防治试验[J]. 山东农业科学, 1988, (1): 38.
- [12] 岳红宾, 王守正, 李洪连, 等. 小麦抗纹枯病鉴定及其方法研究[J]. 河南农业科学, 1995, (12): 21- 24.
- [13] 杨昌林, 韩云章, 傅达昌, 等. 治萎灵灌根防治棉花枯萎病试验简报[J]. 中国棉花, 1991, 18(3): 41- 42.
- [14] 王立鹤. 浅析中国蔬菜的国际竞争力[J]. 国际贸易问题, 2002, (3): 20- 24.
- [15] 苏保乐, 付苏友. 日、韩等国进口我国蔬菜的现状分析[J]. 中国蔬菜, 2002, (3): 5- 7.
- [16] 吴文君. 农药学原理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.

Study on bioactivity of *Cum inum cym inum* extract to several kinds of Fungi

ZHANG Ying-lao, FENG Jun-tao, WANG Ru-xian, SHAO Hong-jun, ZHANG Xing

(Biological Pesticides Research and Service Center, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The bioactivity of *Cum inum cym inum* acetone extract was tested with several kinds of fungi. The results of separate cultivating condition showed that the extract had more than 75% inhibiting rates to the hypha growth of all tested fungi under the concentration of 0.05 g/mL, and had more than 90% inhibiting rates to the spore germination of *Pyricularia grisea* under the concentration of 0.1 g/mL. The results of pot test indicated that the extract had more than 60% protective efficacy to the Black rot of Chinese cabbage, Rice blast, Cucumber downy mildew and had 87.5% therapeutic efficacy to the Rice blast under the concentration of 0.04 g/mL.

Key words: botanical fungicides; *Cum inum cym inum* extract; bioactivity