

7 种精油对香荚兰根腐病尖镰孢菌 抑菌作用的初步研究*

李扬苹¹, 何霞红², 朱有勇², 杨之为¹

(1 西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100; 2 云南省植物病理重点实验室, 云南 昆明 650201)

[摘要] 以樟树油、茶树油、桂皮油、香茅油、桔皮油、薄荷油和丁香油 7 种精油为材料, 测定不同浓度精油对香荚兰根腐病尖镰孢菌菌丝生长和孢子萌发的影响。结果表明, 桂皮油、丁香油、樟树油和香茅油对病菌孢子萌发和菌丝生长均有很强的抑制作用, 其中以 16.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 的桂皮油、丁香油的抑制作用最强, 对孢子萌发和菌丝生长的抑制率分别为 100%, 99.74% 和 100%, 100%。利用桂皮油和丁香油进行温室盆栽防病试验, 均表现出较好的防治效果, 在二者用量为 2.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时防效分别为 81.18% 和 80.02%。

[关键词] 尖镰孢菌香荚兰专化型; 精油; 桂皮油; 丁香油; 抑菌作用

[中图分类号] S481+.9; S482.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)10-0089-05

香荚兰是热带名贵的香料植物, 经济价值极高, 在我国云南西双版纳地区有大面积种植。但近年来, 各种植区相继发生了严重的根腐萎蔫病, 目前已成为西双版纳栽培香荚兰的限制因素^[1]。采用化学药剂防治该病害效果不理想, 而且会污染环境, 因此急需寻找一种安全、有效的新型药剂。精油是中草药中一类重要的活性成分, 其杀菌范围较普遍^[2], 大多有微弱或缓和抑菌功效, 有的种类则具有极强的抗菌活性。利用精油对植物病原菌进行防治是当今农药研究领域的热点问题之一。本研究以 7 种精油为材料, 进行了香荚兰根腐病防治试验, 以期从中筛选出对香荚兰根腐尖镰孢菌抑制作用较强的精油。

1 材料与方法

1.1 材料

供试精油: 樟树油、茶树油、桂皮油、香茅油、桔皮油、薄荷油和丁香油。

供试菌株: 香荚兰尖镰孢菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* Gordon)。

培养基: PSA 培养基, 查氏液体培养基。

以上试验材料及菌种均由云南省植物病理重点实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 精油配制 用丙酮将 7 种精油分别稀释成

0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。

1.2.2 精油对病菌孢子萌发率的活性测定^[3] 取在 PSA 培养基上培养 6~7 d 的尖镰孢菌菌丝块, 放入被稀释的查氏液体培养基中制成孢子悬浮液, 调整其浓度至每个视野能看到 50~60 个孢子。取凹面载玻片, 先滴入 15 μL 精油, 对照加入等量的丙酮, 然后加 100 μL 的孢子悬浮液, 每个处理重复 4 次。将玻片置于 24~26 $^{\circ}\text{C}$ 人工气候箱中, 12~16 h 后进行镜检, 观察孢子萌发情况^[4], 统计 100~150 个孢子, 计算萌发率和抑制率。

萌发率/% = (萌发孢子数/总孢子数) \times 100%;

抑制率/% = ((对照组萌发率 - 处理组萌发率)/对照组萌发率) \times 100%。

1.2.3 精油对供试菌丝生长活性的测定^[5] 在无菌条件下, 向培养皿里倒入 9 mL 的 PSA 培养基, 再加入 1 mL 精油, 对照组加入 1 mL 丙酮, 轻轻摇匀, 制成平板。待凝固后, 每皿接入一个生长一致的菌饼 ($d = 4.0$ mm), 每处理重复 4 次, 25~27 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 后观察结果。用十字交叉法测量菌落生长直径。

相对抑制率/% = ((对照菌落直径 - 处理菌落直径)/对照菌落直径) \times 100%。

1.2.4 精油的盆栽防效测定 将从室内试验筛选出的抑菌作用较强的精油, 再进行温室盆栽防病试

* [收稿日期] 2003-09-04

[作者简介] 李扬苹(1978-), 女, 云南澜沧人, 在读硕士, 主要从事植物病理学研究。

[通讯作者] 杨之为(1942-), 男, 陕西西安人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物病理学研究。

验。选用无菌组织培养的香荚兰苗,种入灭菌土壤中,每盆 2 株。在根部人工制造伤口,按每克土 10^5 个孢子量提前 2 d 蘸根接种尖镰孢菌。然后,用丙酮水溶液 ($V_{\text{丙酮}} : V_{\text{水}} = 1 : 4$) 配制桂皮油和丁香油溶液,浓度分别为 2 和 4 $\mu\text{L}/\text{mL}$,震荡摇匀后,每盆施入 20 mL,浸润大部分土壤,每处理重复 4 次,用等量的丙酮水溶液和清水作对照,15 d 后统计病情。首先观察植株的地上部分发病情况,然后将根拔出,记录发病程度。

根部发病分级标准:0 级,不发病;1 级,根尖或受伤根毛变褐色,腐烂,病部长度不超过 1/4;2 级,根变褐,腐烂,病部长度大于 1/4 而少于 1/2;3 级,根变褐,腐烂,病部长度大于 1/2 而少于 3/4;4 级,整根变褐色,腐烂;5 级,整根变褐色,病变部位延伸

至茎基部。

2 结果与分析

2.1 精油对孢子萌发率的影响

7 种精油对尖镰孢菌孢子萌发的抑制作用见表 1。从表 1 可以看出,7 种精油对供试菌均有不同程度的抑制作用,其中 EC_{50} 值的次序为:桂皮油 < 丁香油 < 樟树油 < 香茅油 < 桔皮油 < 茶树油 < 薄荷油,即桂皮油对孢子萌发的抑制作用最强,薄荷油最差。随着精油浓度的增加,7 种精油对孢子萌发的抑制率均增加。7 种精油中,以桂皮油、丁香油、樟树油和香茅油对孢子萌发的抑制效果较好,其余精油的抑制效果不太理想。

表 1 7 种精油对孢子萌发的抑制作用

Table 1 Inhibitory efficacy of seven essential oils on spore germination

精油 Essential oil	浓度/ ($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	萌发率/% Bourgeon rate	抑制率/% Inhibitory rate	毒力回归方程 Toxicity regression equation	有效浓度 EC
樟树油 Camphor oil	0.5	73.14	14.25	$Y = 1.383x + 1.241$ ($r^2 = 0.923$)	$EC_{50} = 5.235$ $EC_{95} = 83.333$
	1	69.75	17.33		
	2	68.67	15.89		
	4	55.60	33.39		
	8	38.34	56.62		
香茅油 Citronella oil	16	13.79	85.54	$Y = 1.501x + 0.865$ ($r^2 = 0.990$)	$EC_{50} = 5.681$ $EC_{95} = 71.426$
	0.5	75.57	7.48		
	1	73.65	11.24		
	2	62.34	22.80		
	4	49.74	39.26		
桂皮油 Cassia oil	8	39.36	53.88	$Y = 2.648x + 0.954$ ($r^2 = 0.933$)	$EC_{50} = 0.340$ $EC_{95} = 1.410$
	16	18.20	79.67		
	0.5	44.88	48.55		
	1	11.07	87.67		
	2	0.86	99.10		
丁香油 Clove oil	4	0.00	100.00	$Y = 3.061x - 2.100$ ($r^2 = 0.958$)	$EC_{50} = 2.092$ $EC_{95} = 7.194$
	8	0.00	100.00		
	16	0.00	100.00		
	0.5	77.69	7.13		
	1	67.83	16.91		
茶树油 Tea oil	2	56.97	30.76	$Y = 0.748x + 2.339$ ($r^2 = 0.948$)	$EC_{50} = 35.714$
	4	37.88	56.69		
	8	8.16	91.28		
	16	0.25	99.74		
	0.5	77.89	5.89		
桔皮油 Orange husk oil	1	71.23	12.80	$Y = 0.899x + 2.199$ ($r^2 = 0.867$)	$EC_{50} = 13.513$ $EC_{95} = 1000.000$
	2	63.87	22.09		
	4	59.20	28.52		
	8	58.56	28.95		
	16	53.16	35.01		
	0.5	68.19	14.94		
	1	66.97	17.21		
	2	66.46	18.33		
	4	64.23	21.57		
	8	56.08	33.03		
	16	24.52	69.26		

续表 1 Continued table 1

精油 Essential oil	浓度/ ($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	萌发率/% Bourgeon rate	抑制率/% Inhibitory rate	毒力回归方程 Toxicity regression equation	有效浓度 EC
薄荷油 Pennyroyal oil	0.5	84.04	2.34	$Y = 0.971x + 1.162$ ($r^2 = 0.991$)	EC ₅₀ = 90.909
	1	79.78	3.23		
	2	73.84	9.49		
	4	67.18	17.08		
	8	58.52	27.38		
	16	51.78	35.32		
对照 CK	丙酮 Acetone 清水 Water	80.83 86.34			

2.2 精油对菌丝生长活性的影响

7 种精油对尖镰孢菌菌丝生长活性的测定结果见表 2。从表 2 可以看出, 不同精油对供试菌菌丝的抑制率随浓度的增加而提高, 抑制效果与精油对孢子萌发抑制率的趋势大体一致。其中 EC₅₀ 值的次序

为: 桂皮油 < 丁香油 < 香茅油 < 樟树油 < 薄荷油 < 桔皮油 < 茶树油, 表明桂皮油对菌丝生长活性的抑制作用最强, 丁香油、香茅油和樟树油的作用次之, 而其余 3 种精油对菌丝生长的抑制作用不理想。

表 2 7 种精油对菌丝生长的抑制作用

Table 2 Inhibitory effect of seven essential oils on hypae growth

精油 Essential oil	浓度/ ($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	菌落直径/cm Hypae diameter	抑制率/% Inhibitory rate	毒力回归方程 Toxicity regression equation	有效浓度 EC
樟树油 Camphor oil	0.5	6.07	18.19	$Y = 2.657x + 1.302$ ($r^2 = 0.815$)	EC ₅₀ = 2.356 EC ₉₅ = 9.803
	1	5.60	24.53		
	2	6.57	11.46		
	4	4.50	39.35		
	8	2.07	72.10		
	16	0.00	100.00		
香茅油 Citronella oil	0.5	4.40	40.70	$Y = 2.075x + 0.561$ ($r^2 = 0.762$)	EC ₅₀ = 1.379 EC ₉₅ = 8.621
	1	4.60	38.01		
	2	3.50	52.83		
	4	2.73	63.21		
	8	2.90	60.92		
	16	0.00	100.00		
桂皮油 Cassia oil	0.5	4.50	39.35	$Y = 3.304x + 0.054$ ($r^2 = 0.828$)	E ₅₀ = 0.310 E ₉₅ = 0.990
	1	4.50	39.35		
	2	0.00	100.00		
	4	0.00	100.00		
	8	0.00	100.00		
	16	0.00	100.00		
丁香油 Clove oil	0.5	5.33	28.17	$Y = 3.148x - 1.438$ ($r^2 = 0.915$)	EC ₅₀ = 1.001 EC ₉₅ = 3.717
	1	3.80	48.79		
	2	2.97	59.97		
	4	2.13	71.29		
	8	0.00	100.00		
	16	0.00	100.00		
茶树油 Tea oil	0.5	6.77	8.76	$Y = 0.466x + 2.991$ ($r^2 = 0.938$)	EC ₅₀ = 200.000
	1	6.10	17.79		
	2	6.03	18.73		
	4	5.90	20.49		
	8	5.60	24.53		
	16	5.20	29.92		
桔皮油 Orange husk oil	0.5	6.53	11.99	$Y = 0.721x + 2.729$ ($r^2 = 0.926$)	EC ₅₀ = 142.857
	1	5.70	23.18		
	2	5.16	30.46		
	4	4.94	33.42		
	8	4.20	43.40		
	16	3.76	49.33		

续表 2 Continued table 2

精油 Essential oil	浓度/ ($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	菌落直径/cm Hypae diameter	抑制率/% Inhibitory rate	毒力回归方程 Toxicity regression equation	有效浓度 EC
薄荷油 Pennyroyal oil	0.5	6.70	9.70	$Y = 1.155x + 1.672$ ($r^2 = 0.956$)	EC ₅₀ = 7.633 EC ₉₅ = 200.000
	1	6.30	15.09		
	2	5.42	26.95		
	4	5.56	25.07		
	8	2.87	61.32		
	16	2.70	63.61		
对照 CK	丙酮 A cetone 清水 Water	7.30 7.80			

2.3 盆栽防病试验结果

依据 7 种精油对供试菌孢子萌发和菌丝生长抑制能力的测定结果, 选用桂皮油和丁香油进行盆栽防病试验, 试验结果见表 3。从表 3 中的根部病指来看, 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 的桂皮油和丁香油均表现出较好的抑

制效果, 防效分别为 81.18% 和 80.02%, 二者差异不显著。但从地上部分的发病严重度来看, 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 丁香油的发病严重度(+)要低于 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 桂皮油(+++)。

表 3 桂皮油和丁香油防治香荚兰根腐病的温室试验效果

Table 3 Control effect of cassia oil and clove oil on root rot of vanilla

精油 Essential oil	浓度/ ($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	病株率/% Incidence of disease	地上部严重度 Disease severity	根部病指 Disease index	防效/% Efficacy
桂皮油 Cassia oil	2	33.30	++	14.50	81.18
	4	66.60	+	58.20	24.49
丁香油 Clove oil	2	33.30	+	15.40	80.02
	4	50.00	++	47.10	38.89
丙酮对照 A cetone		83.30	+++	77.80	
清水对照 Water		50.00	+	20.00	

注: “+”表示植株茎基部腐烂; “++”表示植株茎基部缢缩或猝倒; “+++”表示植株死亡。

Note: “+” denotes basal stem rot; “++” denotes basal stem rot so it leads to cataplexy; “+++” denotes death of plant

3 结论与讨论

7 种精油对香荚兰尖镰孢菌菌丝生长的抑制趋势与对孢子萌发的抑制趋势大体一致, 随着精油浓度的增加, 抑菌强度也随之增加。从对孢子萌发和菌丝生长的抑制作用综合来看, 桂皮油、丁香油、樟树油和香茅油对尖镰孢菌的抑制作用较佳, 其中桂皮油和丁香油的 EC₅₀ 都较低, 有利于实际应用。樟树油和香茅油只有在最高浓度(8 $\mu\text{L}/\text{mL}$) 时才能表现出完全的抑制作用。在温室盆栽试验中, 桂皮油和丁香油都表现出较好的防治效果。

在对尖镰孢菌菌丝生长和孢子萌发抑制作用的测定中, 4 种效果好的精油的抑制率从高到低的顺序大体一致, 只是香茅油抑制菌丝生长的致死中量低于樟树油, 而香茅油在孢子萌发活性测定中的致死中量则高于樟树油。本研究结果表明, 香茅油对菌丝生长的抑制作用比对孢子萌发的抑制作用强。

在温室防效试验中, 桂皮油和丁香油的防效并不随着浓度的增加而增加, 反而随之降低, 与离体测

定所得结果不一致。可能是由于精油浓度增高, 其挥发性增大, 而导致高浓度精油的防效降低。除此之外, 从表 3 中可以看出, 丙酮对照的发病率高于清水对照, 表明丙酮有促进植株发病的作用, 而精油是溶于丙酮水溶液中的, 故对其防效也有一定影响。具体的影响因素还需进一步研究和证实。

桂皮油和丁香油在离体试验和活体试验中都表现出较好的抑菌效果, 具有对香荚兰根腐病进行生物防治的最大潜力, 它们在田间的防治效果尚需进一步研究。

目前, 在应用植物精油防治病虫害的研究中, 以直接利用提取出的精油为主。建议今后从以下 2 个方面展开深入研究: 一方面是解决精油在实际应用中如何有效发挥其活性, 即如何将精油加工成合适的剂型或给其以特殊的载体; 另一方面是进一步研究分析精油中有效成分的化学结构, 然后根据此结构进行修饰、合成, 得到一种能有效控制植物病害并且不破坏生态环境的药剂^[2]。

[参考文献]

- [1] 何美云, 陈艳, 李加智, 等. 西双版纳香荚兰根腐病田间化学防治试验 (I) [J]. 云南热作科技, 1999, 22(2): 7-12.
- [2] 江志利, 张兴, 冯俊涛. 植物精油研究及其在植物保护中的利用 [J]. 陕西农业科学, 2002, (1): 32-36.
- [3] 王树桐, 王晓燕, 刘均玲, 等. 对马铃薯晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) 有杀菌毒性的中草药的筛选 [J]. 河北农业大学学报, 2001, 24(2): 101-107.
- [4] 方中达. 植病研究方法 [M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [5] 于平儒, 邵红军, 冯俊涛, 等. 62 种植物样品对菌丝活性的测定 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2001, 29(6): 65-69.

Preliminary study on the inhibitory efficacy of seven essential oils on *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* Gordon

L I Yang-ping¹, HE Xia-hong², ZHU You-yong², YANG Zhi-wei¹

(1 College of Plant Protection, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Yunnan Key Laboratory of Botanic Pathology, Kunming, Yunnan 650201, China)

Abstract: The effects of seven essential oils on spore germination and hyphae growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* Gordon were evaluated. The cassia oil, clove oil, camphor oil and citronella oil show high inhibition on spore germination and hyphae growth. Highest inhibition of *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* was obtained with cassia oil and clove oil (160 $\mu\text{L}/\text{mL}$). Their inhibition rates on spore germination and hyphae growth were 100%, 99.74% and 100%, 100% respectively. Other three essential oil, tea oil, orange husk oil and pennyroyal showed low inhibition. In greenhouse test, cassia oil and clove oil had strong inhibiting effect. When their concentration are 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$, the efficacy was 81.18% and 80.02%, respectively.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* Gordon; essential oil; cassia oil; clove oil; inhibitory efficacy

· 简 讯 ·

欢迎订阅 2005 年《植物遗传资源学报》

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院和中国农学会联合主办的专业性学术期刊, 由中国工程院院士董玉琛研究员担任主编, 2000 年创刊, 2003 年国内外公开发行。国内刊号 CN 11-4996/S, 国际统一刊号 ISSN 1672-1810。

报道内容: 大田、园艺作物, 观赏、药用植物, 林用植物, 草类植物及其一切经济植物的有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新、信息学、管理学等; 以及起源、演化、分类等系统学; 基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

读者对象: 从事植物遗传资源科学研究工作的人员, 各有关大专院校的师生, 农业行政和推广人员。

季刊, 大 16 开本, 2005 年由 96 页扩版至 108 页。定价 10 元, 全年 40 元。各地邮局发行, 邮发代号: 82-643。

本刊编辑部常年办理订阅手续, 如需邮挂每期另加 3 元。

地址: 北京市中关村南大街 12 号 中国农业科学院《植物遗传资源学报》编辑部。

邮编: 100081

联系电话: 010-62186657, 62180257, 62180279(兼传真)

电子信箱: zwyczyxb2003@sina.com; zwyczyxb2003@163.com