

5% 蒜精油水乳剂对三种棉花致病菌的毒力作用

蒋家珍¹, 吴学民¹, 陈宁², 何凤琦¹, 李学锋¹, 王成菊^{1*}

(1 中国农业大学理学院, 北京 100094; 2 山东莱阳农学院园艺系)

摘要: 试验采用生长速率法测试了 5% 蒜精油水乳剂对棉花立枯丝核菌、棉花串珠镰孢菌和棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌的室内毒力, 三者的 EC₅₀ 分别为 19.4 mg/L、7.1 mg/L、20.6 mg/L, 表明 5% 蒜精油水乳剂对 3 种病原菌均有明显的抑制作用。试验结果为 5% 蒜精油水乳剂应用于棉花病害的防治提供了依据。

关键词: 大蒜素; 杀菌剂; 棉花; 病害

中图分类号: S482.2⁺92 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2004)10-0037-04

The Toxicity Action of 5% Allicin EW to Three Kinds of Cotton Pathogens

JIANG Jia-zhen¹, WU Xue-min¹, CHEN Ning²,
HE Feng-qi¹, LI Xue-feng¹, WANG Cheng-ju^{1*}

(1 The College of Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2 The Department of Horticulture, Laiyang Agricultural College, Shandong)

Abstract: The toxicity of 5% allicin EW to three kinds of cotton pathogens as *Rhizoctonia solani* Kuhn., *Fusarium moniliforme* Sheldon., *Fusarium oxysporum* F. were assayed in the laboratory using growth velocity method and their EC₅₀ were calculated as 19.4 mg/L, 7.1 mg/L, 20.6 mg/L, resp. The results showed that The activity of allicin to three pathogens can inhibit all of the three fungus effectively. The experiment results will be benefit to application of 5% allicin EW as fungicide to cotton diseases.

Key words: Allicin; Fungicide; Cotton; Disease

随着社会的进步, 人们越来越深刻地认识到长期大量地使用化学农药对生态环境和人类健康造成的极大危害。生物防治可以有效地克服这些弊端, 因而生物农药越来越多地受到人们的重视。其中, 大蒜素作为一种农用抗菌素, 近年来在植保中的应用倍受关注。

大蒜素是百合科多年生宿根草本蒜 (*Allium sativum*) 中所含有的有效成分。天然大蒜的精油含有丙基二硫化丙烯 (约 60%)、二硫化二丙烯 (23%~39%)、三硫化二丙烯 (13%~19%)、二硫化二丙烷 (4%~5%) 及甲基二硫化丙烯等 100

多种挥发性含硫化合物, 总含硫量约为 35%~45%^[1, 2]。大蒜素的生物活性主要来源于它与含巯基化合物的相互作用和抗氧化能力^[3], 其抗菌的机理可能是对乙酰辅酶 A 的抑制作用^[4]。

大蒜素不但具有良好的抑菌效果, 还具备植物源农药所独有的环境友好特性, 这使大蒜素的应用具有广阔的前景。在农作物病害防治中, 传统的化学防治应用较多, 农用抗生素的研究相对滞后, 有关大蒜素在棉花病害防治中的应用研究较少。其中棉花立枯病、棉花根腐病、棉花枯萎病是 3 种常见且危害严重的病害, 对棉花产量与质

收稿日期: 2004-07-09

基金项目: 国家“十五”攻关项目 (2001BA509B08); 国家 863 项目 (2003AA241170-04)

作者简介: 蒋家珍 (1971-), 男, 山东栖霞人, 在读博士, 主要从事杀菌剂研究。

通讯作者: 王成菊

量影响极大^[5-8]。本试验以这3种病害的致病菌立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn.)、棉花串珠镰孢菌(*Fusarium moniliforme* Sheldon.)和棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌(*Fusarium oxysporum* F.)为供试菌,采用室内生长速率法测定5%蒜精油对它们的毒力,旨在为蒜精油水乳剂用于防治棉花立枯病、红腐病和枯萎病提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试菌种:棉花立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn.);棉花串珠镰孢菌(*Fusarium moniliforme* Sheldon.);棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌(*Fusarium oxysporum* F.)。菌种均由中国农业大学理学院生测室提供。

供试药剂:5%蒜精油水乳剂(由济宁中大多元素研究所提供)。

主要仪器设备:隔水式电热恒温培养箱(山东潍坊医疗器械厂);电动鼓风电热干燥箱(公私合营电理仪器厂);蒸汽消毒器具(山东新华医疗器械厂)。

主要分析软件:SAS(6.12)

1.2 试验方法

采用生长速率法,测定供试药剂对目标菌的 EC_{50} (详细方法参见《农药生物测定》^[9])。

1.2.1 培养基(PDA)制作、灭菌与接种 将去皮马铃薯200g煮沸0.5h,取其汁液加入蔗糖15g、琼脂18g,重新煮沸,并定容至1000ml;将PDA分装,放在灭菌锅中121℃灭菌0.5h,趁热做成斜面备用;将供试菌接在已高温灭菌的PDA上,放在培养箱中培养。

1.2.2 病原菌的繁殖 在超净台中,用接种针从供试菌的菌种管中挑取一块带有目标菌的培养基小块,放到含PDA培养基的大培养皿中,迅速盖上培养皿,用封条封紧,在恒温培养箱中培养。

1.2.3 菌饼制作 当供试菌的菌落在培养皿中分布均匀以后,用灭过菌的内径为0.85cm的取样器打孔,得到直径为0.85cm的菌饼。

1.2.4 带药培养基制作 向直径为10cm的培养皿内注入1ml待测的蒜精油,然后向其中注入9ml(温度85~90℃)培养基,在超净台上摇匀,铺成一均匀平面。设定6个蒜精油药剂浓度,1

个空白对照(表1)。

1.2.5 菌饼转移 将打制好的菌饼,置于带药培养基上,每只培养皿内放入1个菌饼。

1.2.6 抑菌作用测定 将培养皿放入培养箱中培养,24~48h后,根据目标菌落扩展状况检查结果,并在适宜的时间测定每个菌饼扩展的菌落直径。

将5%蒜精油水乳剂的浓度转化成浓度对数,将它对供试菌的抑制百分率转化成抑制机率,求二者的回归方程,并由此方程计算供试药的 EC_{50} 与 EC_{95} 。

2 结果与分析

2.1 5%蒜精油水乳剂对棉花立枯丝核菌抑制作用

由6种不同浓度的蒜精油试剂分别测得相应的对棉花立枯丝核菌的抑制率。由于药剂浓度与抑制百分率二变量之间呈非线性关系,它是一条不对称的S形曲线。将浓度转化为对数,则不对称的S形曲线变为对称的S形曲线,再将抑制百分率转化为抑制机率值(表1),则对称的S形曲线变为一条直线,即浓度对数—抑制机率值直线。根据蒜精油浓度对数与抑制机率求得二变量的回归方程。

表1 5%蒜精油水乳剂浓度对数与对棉花立枯丝核菌的抑制机率

蒜精油浓度 (mg/L)	浓度对数	平均半径 (cm)	抑制百分率 (%)	抑制机率值
100	2.000	0.50	1.000	9.77
50	1.699	2.48	0.726	5.60
25	1.398	3.15	0.507	5.02
12.5	1.097	3.47	0.379	4.69
6.25	0.796	3.75	0.257	4.35
3.125	0.495	3.85	0.210	4.19
ck		4.27	0.000	0.73

用SAS软件做回归分析得,5%蒜精油水乳剂浓度对数与对棉花立枯丝核菌抑制机率的预测模型为:

$$Y = 0.827X - 2.848 \quad (1)$$

$$R^2 = 0.957^{**}$$

由于浓度 $C = \text{Power}(10, y)$, 所以,

当 $X = 5$ 时, $EC_{50} = 19.4 \text{ mg/L}$

当 $X = 6.645$ 时, $EC_{95} = 443.7 \text{ mg/L}$

其中 Y 为 5%蒜精油水乳剂浓度对数, X 为

抑制机率, R^2 为确定系数, ** 表示确定系数达极显著水平, 下同。

上述结果表明, 以 19.4 mg/L 的药剂浓度对棉花立枯丝核菌能达到 50% 的抑制率, 以 443.7 mg/L 的药剂浓度对棉花立枯丝核菌能达到 95% 的抑制率。

2.2 5% 蒜精油水乳剂对棉花串珠镰孢菌抑制作用

由 6 种不同浓度的蒜精油试剂分别测得相应的对棉花串珠镰孢菌的抑制率。将浓度转化为对数, 则不对称的 S 形曲线变为对称的 S 形曲线, 再将抑制百分率转化为机率值(表 2), 则对称的 S 形曲线变为一条直线, 即浓度对数——抑制机率值直线。根据蒜精油浓度对数与抑制机率求得二变量的回归方程。

表 2 5% 蒜精油水乳剂浓度对数与对棉花串珠镰孢菌的抑制机率

浓度 (mg/L)	浓度对数	平均半径 (cm)	抑制百分率 (%)	抑制机率值
100	2	0.40	1.000	9.77
50	1.699	0.87	0.841	6.00
25	1.398	0.93	0.798	5.83
12.5	1.097	1.11	0.641	5.36
6.25	0.796	1.22	0.518	5.05
3.125	0.495	1.40	0.284	4.43
ck		1.59	0.000	0.73

用 SAS 软件做回归分析得, 5% 蒜精油水乳剂浓度对数与对棉花串珠镰孢菌抑制机率的预测模型为:

$$Y = 0.742X - 2.859 \quad (2)$$

$$R^2 = 0.967^{**}$$

由于浓度 $C = \text{Power}(10, y)$, 所以,

当 $X = 5$ 时, $EC_{50} = 7.1 \text{ mg/L}$

当 $X = 6.645$ 时, $EC_{95} = 117.3 \text{ mg/L}$

上述结果表明, 7.1 mg/L 的药剂浓度对棉花串珠镰孢菌能达到 50% 的抑制率, 117.3 mg/L 的药剂浓度对棉花串珠镰孢菌能达到 95% 的抑制率。

2.3 5% 蒜精油水乳剂对棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌抑制作用

由 6 种不同浓度的蒜精油试剂分别测得相应的对棉花串珠镰孢菌的抑制率。将浓度转化为对数, 则不对称的 S 形曲线变为对称的 S 形曲线, 再将抑制百分率转化为机率值(表 3), 则对称的 S 形曲线变为一条直线, 即浓度对数——抑制机率

值直线。根据蒜精油浓度对数与抑制机率求得二变量的回归方程。

表 3 5% 蒜精油水乳剂浓度对数与对棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌的抑制机率

浓度 (mg/L)	浓度对数	平均半径 (cm)	抑制百分率 (%)	抑制机率值
100	2.000	0.60	1.000	9.77
50	1.699	1.07	0.818	5.91
25	1.398	1.35	0.537	5.09
12.5	1.097	1.46	0.399	4.74
6.25	0.796	1.66	0.084	3.62
3.125	0.495	1.70	0.014	2.79
ck		1.70	0.000	0.73

用 SAS 软件做回归分析得, 5% 蒜精油水乳剂浓度对数与对棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌抑制机率的预测模型为:

$$Y = 0.383X - 0.599 \quad (3)$$

$$R^2 = 0.980^{**}$$

由于浓度 $C = \text{Power}(10, y)$, 所以,

当 $X = 5$ 时, $EC_{50} = 20.6 \text{ mg/L}$

当 $X = 6.645$ 时, $EC_{95} = 87.8 \text{ mg/L}$

即, 以 20.6 mg/L 的药剂浓度对棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌能达到 50% 的抑制率, 以 87.8 mg/L 的药剂浓度对棉花尖镰孢萎蔫专化型真菌能达到 95% 的抑制率。

3 结论与讨论

1) 通过室内毒力测试 (EC_{50} 与 EC_{95}) 可知, 5% 蒜精油水乳剂对 3 种供试菌种有着很好的抑制效果。从而推断 5% 蒜精油水乳剂有较广的杀菌谱, 而且杀菌毒力较强, 可以应用于棉花病害的防治中。但是要将它们用于棉花病害的防治还应对其作进一步的研究, 诸如对棉株生长的影响、对环境的影响、成本分析等, 力求经济合理地施用农用抗菌素。

2) 试验结果均为室内毒力测定, 其互作关系为药剂—病原菌间的双因素关系; 而在生产中, 药剂对病原菌的作用为寄主—农药—病原菌—环境间的四维关系, 故上述结果要结合温室及田间试验, 综合评价大蒜精油的实用价值。

3) 大蒜素既有良好的抑菌效果, 还具有植物源农药所具有的环境友好的特性, 因而大蒜素作为农用抗菌素在棉花病害防治中有着广阔的应用前景。

(下转第 66 页)

表2 硼酸浸种处理对叶甜菜种子发芽的影响

处理浓度 (g/kg)	发芽率 (%)	发芽势 (%)	发芽指数
0.5	73.37 aA	71.13 aA	12.99 aA
0.4	63.32 abAB	62.91 abAB	10.48 abAB
0.3	50.00 abAB	48.07 abAB	8.92 abAB
0.2	45.83 bAB	44.38 abAB	8.79 bAB
0.1	43.34 bB	42.00 bB	8.30 bB
0(ck)	42.50 bB	41.83 bB	8.19 bB

2.3 赤霉素浸种对叶甜菜种子发芽的影响

由表3可以看出,不同浓度的赤霉素溶液处理叶甜菜种子,提高种子发芽率、发芽势及发芽指数的效果不明显,且无一定的规律性。据此可认为,赤霉素浸种处理叶甜菜种子,对促进发芽的作用不大。

表3 赤霉素浸种处理对叶甜菜种子发芽的影响

处理浓度 (g/kg)	发芽率 (%)	发芽势 (%)	发芽指数
100	49.00	39.76	8.55
70	56.90	47.65	10.08
50	52.55	46.77	10.10
30	54.90	51.59	9.99
10	54.21	48.53	10.04
0(ck)	43.62	43.03	8.32

2.4 磷酸二氢钾浸种对叶甜菜种子发芽的影响

由表4可以看出,与对照相比,用一定浓度的磷酸二氢钾处理叶甜菜种子,也可提高种子的发芽率、发芽势和发芽指数。在试验浓度范围内,3项种子发芽指标值都随处理浓度的增大而提高,

其中以5 g/kg KH_2PO_4 处理促进种子发芽的效果最显著。

表4 磷酸二氢钾浸种处理对叶甜菜种子发芽的影响

处理浓度 (g/kg)	发芽率 (%)	发芽势 (%)	发芽指数
5	70.17 aA	68.14 aA	12.16 aA
4	62.91 abAB	60.72 abAB	11.51 abAB
3	53.68 abAB	50.46 abAB	10.74 abAB
2	48.06 abAB	45.33 abAB	8.53 bAB
1	43.83 bAB	41.12 bAB	7.62 bB
0(ck)	43.05 bB	40.75 bB	7.44 bB

3 小结

不同化学药剂和植物激素浸种处理对叶甜菜种子发芽的影响不同。一定浓度的双氧水浸种处理,对种子发芽可起到促进作用,其中以10 g/kg 处理最为适宜。不同浓度的硼酸处理,提高了叶甜菜种子的发芽率、发芽势与发芽指数,其中以0.5 g/kg 处理较为适宜。同样,磷酸二氢钾处理也可提高种子的发芽率、发芽势与发芽指数,其中以5 g/kg 处理促进种子发芽的效果最为显著。而不同浓度的赤霉素浸种处理,对促进叶甜菜种子发芽的效果不明显。

参考文献:

- [1] 中国农业科学院蔬菜研究所. 中国蔬菜栽培学[M]. 北京: 农业出版社, 1987. 514—517.
- [2] 李曙轩, 李树德, 蒋先明, 等. 中国农业百科全书·蔬菜卷[M]. 北京: 农业出版社, 1990. 318.

(上接第39页)

参考文献:

- [1] 杨凤娟, 刘世琦. 大蒜素研究进展[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(6): 1 034—1 037, 1 051.
- [2] 赵炳存, 张宏义. 大蒜素—新型饲料添加剂[J]. 饲料工业, 1999, 20(8): 19—20.
- [3] Talia Miron, Aharon Rabinkov, et al. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity [J]. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000, 1463, 20—30.
- [4] Manfred Fockø, Andrea Feld, Hartmut K. Lichtenhaler. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase[J]. *FEBS Letters* 1990, 261(1): 106—108.
- [5] 陈其焜. 我国棉花病害发生情况及防治进展[J]. 农药, 1996, 35(3): 6—10.
- [6] 潘国占. 棉花立枯病的发生特点及防治措施[J]. 农业科技通讯, 2000(7): 27.
- [7] 杨建荣. 棉花红腐病及防治[J]. 石河子科技, 1999(6): 43—44.
- [8] 闫纯博, 王峰棉. 棉花枯萎病、黄萎病及综合防治[J]. 新疆农垦科技, 1995(5): 3—4.
- [9] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1990. 98—112.